

Elisa Salmi D2871 T5416KN

**KUPARISULFAATIN JA  
AMOKSISILLIININ VAIKUTUS  
NAUDAN LIETELANNAN  
MÄDÄTYKSESSÄ**

Opinnäytetyö  
Ympäristötekniologia

2019



**Kaakkois-Suomen  
ammattikorkeakoulu**

<b>Tekijä</b>	<b>Tutkinto</b>	<b>Aika</b>
Elisa Salmi	Ympäristöinsinööri (AMK)	22.5.2019
<b>Opinnäytetyön nimi</b>		35 sivua
Kuparisulfaatin ja amoksisilliinin vaikutus naudan lietelannan mädätyksessä		3 liitesivua
<b>Toimeksiantaja</b>		
Kaakkois-Suomen ammattikorkeakoulu/SmartEffluents -hankekokonaisuus		
<b>Ohjaaja</b>		
Marjatta Lehesvaara		
<b>Tiivistelmä</b>		
<p>Biokaasun tuotannossa ja sen kannattavuudessa yksi ratkaisevista tekijöistä on siihen käytettävän raaka-aineen ominaisuudet. Tästä syystä on tärkeää tutkia raaka-aineissa olevia, prosessia mahdollisesti vahingoittavia aineita. Lietelanta on yksi biokaasuprosessissa yleisesti käytetyistä raaka-aineista. Siihen voi päätyä inhiboivia aineita esimerkiksi eläinten hoidon yhteydessä.</p> <p>Tässä opinnäytetyössä tutkitaan kuparisulfaatin ja amoksisilliinin vaikutusta lietelannan mädätykseen, ja erityisesti niiden merkitystä mädätyksestä saatavan biokaasun ja metaanin tuottoihin. Kumpaakin kemikaalia käytetään maataloudessa melko laajasti eläinten terveyden ylläpitoon: kuparisulfaatilla hoidetaan sorkkia, amoksisilliinillä erilaisia tulehduksia. Tutkimus on tehty Kaakkois-Suomen ammattikorkeakoululla toimivalle SmartEffluents -hankekokonaisuudelle osana tutkimussarjaa, jossa on selvitetty maatalouden jäte- ja sivuvirtojen biokaasun tuotannon mahdollisuuksia.</p> <p>Tutkimus toteutettiin 28 vuorokauden kestoisena panoskokeena Kaakkois-Suomen ammattikorkeakoulun ympäristölaboratoriolla. Kummankin kemikaalin vaikutuksia tutkittiin kahdella eri pitoisuudella – 0,1% sekä 0,01%. Määdätettävistä syötteistä määritettiin kertyneen biokaasun määrät sekä metaanipitoisuudet muutaman päivän välein. Biokaasumittaukset tehtiin vesivaa’alla ja metaanipitoisuudet määritettiin kaasukromatografilla.</p> <p>Kuparisulfaatti vaikutti mädätysprosessiin selkeämmin kuin amoksisilliini. Erityisesti suuremmalla pitoisuudella inhiboiva vaikutus sekä biokaasun määrään että sen metaanipitoisuuteen on ilmeinen. Myös amoksisilliinin pitoisuuksien tulokset osoittavat vaikutusta olevan, vaikka ne eivät ole aivan yhtä selkeitä. Huomiota herättää biokaasun ja metaanin tuoton epävakaisuus amoksisilliinin ollessa läsnä.</p> <p>Näiden tulosten perusteella on syytä tarkastella kuparisulfaatin pitoisuuksia sorkkakylvyissä maataloilla, joilla on käytössä biokaasulaitos. Amoksisilliinin epävakaan prosessin vuoksi hajoaminen tapahtuu mahdollisesti hitaammin. Tästä syystä, mikäli sitä päätyy biokaasuprosessiin, tulisi miettiä sen mahdollista vaikutusta sopivaan viipymäaikaan. Kummankin aineen kohdalla olisi hyödyllistä tutkia vaikutuksia lietelannan yhteismädätyksessä jonkin maatalouden sivuvirran kanssa.</p>		
<b>Asiasanat</b>		
anaerobinen hajoaminen, biokaasu, lietelanta, amoksisilliini, kuparisulfaatti		

Author	Degree	Time
Elisa Salmi	Bachelor of Engineering	May 2019
<b>Thesis title</b> The effect of copper sulfate and amoxicillin on the digestion of cattle slurry		35 pages 3 pages of appendices
<b>Commissioned by</b> South-Eastern Finland University of Applied Sciences		
<b>Supervisor</b> Marjatta Lehesvaara		
<b>Abstract</b> <p>One of the most important factors in the viability of biogas production are the features of the substrate used. It is therefore necessary to study different substances that might be present in the substrate and could damage the process. Slurry is a substrate commonly used in the biogas process. It combines animals' urine and feces with washing water used to clean the barn. Inhibitory substances, such as copper sulfate and amoxicillin, could end up in slurry from medical treatment of the animals.</p> <p>The objective of this thesis was to study the effect of copper sulfate and amoxicillin on the digestion of cattle slurry. The focus was mainly kept on the biogas and methane yields that was produced. Copper sulphate ends up in slurry usually from the copper sulphate baths that are used for treatment of animals' hooves. Amoxicillin is used extensively in animal care and it ends up in slurry, as the animals secrete a large portion of the administered drugs.</p> <p>The study was executed as a batch test lasting for 28 days. The effect of both chemicals was examined by studying two different concentrations (0,1 % and 0,01 %). For every patch, the accumulated biogas and its methane content were diagnosed six times in total. Biogas yields were measured by using a water scale and methane content was diagnosed with a gas chromatograph.</p> <p>The effect of copper sulfate was greater than the one of amoxicillin. Particularly at a higher concentration of copper sulfate, the detrimental effect on both, the amount of biogas and its methane content, was very clear. Amoxicillin also showed some sort of negative effect on the process, but it was not as significant. The irregular accumulation of biogas and methane production with amoxicillin was particularly paid interest to.</p> <p>Based on these results, it is necessary to consider the concentrations of copper sulphate in the baths for hooves if slurry is used in biogas process. Due to the unstable process with amoxicillin, decomposition may occur more slowly. Therefore, if amoxicillin gets into the biogas process, a suitable retention time should be re-considered. For both substances, it might be useful to study the effects of co-digestion of slurry and some other agricultural substrate, such as straw.</p>		
<b>Keywords</b> anaerobic digestion, biogas, slurry, amoxicillin, copper sulfate		

# SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	6
2	LIETELANTA BIOKAASUPROSESSISSA .....	8
2.1	Anaerobinen hajoaminen .....	8
2.2	Biokaasuprosessin olosuhteet .....	10
2.3	Lietelannan ominaisuudet substraattina .....	11
2.3.1	Kuiva- ja orgaaninen aines .....	11
2.3.2	Metaanintuotto .....	13
2.3.3	Ravinteet.....	13
2.4	Lietelannan mädätys biokaasulaitoksessa.....	14
3	TUTKITUT KEMIKAALIT .....	16
3.1	Kuparisulfaatti .....	17
3.2	Amoksisilliini .....	18
4	BIOKAASUN- JA METAANINTUOTON MITTAUS .....	20
4.1	Syötteet.....	20
4.2	Syötteiden ja tutkittujen aineiden määrät .....	21
4.3	Panospullojen täyttäminen.....	22
4.4	Biokaasuntuoton ja metaanipitoisuuksien seuranta .....	24
4.4.1	Vesivaaka .....	24
4.4.2	Kaasukromatografi.....	25
4.5	Mittaustulosten käsittely.....	25
5	TULOKSET.....	27
5.1	Kuparisulfaatin vaikutus.....	27
5.2	Amoksisilliinin vaikutus .....	29
6	TULOSTEN TARKASTELU .....	30
7	JOHTOPÄÄTÖKSET .....	32
	LÄHTEET.....	34
	LIITTEET	

Liite 1. Esimerkki biokaasun mittaustuloksista

Liite 2. Esimerkki kaasukromatografian piirtämistä piikeistä

Liite 3. Esimerkki piikkien integroiduista pinta-aloista

## 1 JOHDANTO

Energiantuotanto on murroksessa, sillä viime vuosisadan perinteistä ratkaisua, fossiilisten polttoaineiden polttoa, ei enää katsota kestäväksi tai ympäristölle ystävälliseksi. Lähitulevaisuuden haasteet liittyvät lisäksi väheneviin luonnonvaroihin ja ravinteisiin: joidenkin ennusteiden mukaan ruoantuotannon lannoitteena laajasti käytetty fosfori saattaa loppua maailmasta jo tällä vuosisadalla (Kymäläinen & Pakarinen 2013, 7; Royal Society of Chemistry 2019). Tämän vuoksi kaikkea, mitä on mahdollisesti ennen katsottu turhana jätteenä, tulee tarkastella kiertotalouden näkökulmasta.

Mädätys on prosessi, josta saadaan tuotettua uusiutuvaa energiaa biokaasun muodossa sekä ravinnerikasta lannoitetta mädätysjäätteenä. Mädätyksessä prosessiin syötetyn raaka-aineen eli substraatin sisältämä orgaaninen aines hajoaa mikrobien toimesta anaerobisissa olosuhteissa. Tuotteena saatava biokaasu koostuu pääasiassa metaanista ja hiilidioksidista, ja sitä voidaan hyödyntää lämmön- ja sähköntuotantoon sekä jalostuksen jälkeen liikennepolttoaineena.

Mädätyksen raaka-aineina voidaan käyttää kaikenlaista hajoavaa biomassaa. Lanta on eläinten ruoansulatuksen tuotosta, joka sisältää paljon ravinteita, erityisesti fosforia. Lanta voidaan kerätä navetoista lietelantana, jolloin siinä on sonnan ja virtsan lisäksi mukana eläinsuojan pesuvesiä ja mahdollisia muita vesiä helpottaen sen poistoa, keruuta ja siirtoa. Lantaa syntyy Suomen maataloilla vuosittain noin 20 miljoonaa tonnia (Maa- ja metsätalousministeriö 2019).

Biokaasun tuotantoa ja tekniikkaa on viime vuosikymmeninä tutkittu ja kehitetty paljon, sillä anaerobisessa hajoamisessa työskentelevät mikrobit ovat hyvin tarkkoja elinympäristöstään ja alttiita muuttuville olosuhteille. Erilaiset jätevirrat ovat yleisiä prosessin raaka-aineita, mutta niissä on usein vierasaineita, jotka saattavat vaikeuttaa tai jopa lopettaa biokaasun tuottamiseksi vaadittavan mikrobitoiminnan. Tästä syystä yhtenä suurena tutkimuskohteena biokaasuteknologian alalla ovat olleet tällaiset syötteissä olevat, hajoamista inhiboivat aineet.

Tässä opinnäytetyössä tutkitaan kuparisulfaatin ja amoksisilliinin vaikutusta lietelannan mädätykseen ja erityisesti siitä saatavan biokaasun määrään ja metaanipitoisuuteen. Kumpaakin kemikaalia käytetään maataloudessa melko laajasti eläinten terveyden ylläpitoon: kuparisulfaatilla hoidetaan sorkkia, amoksisilliinillä erilaisia tulehduksia. Tutkimus on toteutettu mädättämällä panoskokeessa lietelantaa sekä tutkittuja aineita sisältäviä syötteitä, ja mittamalla syntyvää biokaasun määrää sekä metaanipitoisuutta. Koe on suoritettu Kaakkois-Suomen ammattikorkeakoulun ympäristölaboratoriolla.

Kuparisulfaatin vaikutusta biokaasuprosessissa ei olla aikaisemmin tutkittu, joten tällä tutkimuksella saatavat tulokset ovat sen osalta uutta tietoa. Toisaalta, sekä kuparin että sulfaatin on erikseen useissa tutkimuksissa osoitettu inhiboivan hajoamista, joten hypoteesina on, että myös kuparisulfaatti näin tekisi.

Amoksisilliinin inhiboivasta vaikutuksesta löytyy jonkin verran näyttöä muista tutkimuksista. Tähän opinnäytetyöhön amoksisilliini valikoitui, sillä koululla aikaisemmin tehdyssä opinnäytetyössä (Karhinen 2017) ei se, oletusten vastaisesti, erityisemmin haitannut prosessia. Tätä selitettiin sillä, että tutkimuksessa käytettiin sellupohjaisia antibioottikiekkkoja, jotka ovat mahdollisesti lisänneet prosessiin orgaanista aineista. Koska tässä kokeessa amoksisilliini lisätään jauheena sekä melko suurina pitoisuuksina, hypoteesina myös sen osalta on, että pitoisuudet syötteessä vähentävät syntyvää biokaasun ja metaanin määrää.

Tutkimus on tehty SmartEffluents -hankekokonaisuudelle osana tutkimussarjaa, jossa on selvitetty maatalouden jäte- ja sivuvirtojen biokaasun tuotannon mahdollisuuksia. Tarkoituksena on tuoda lisää tutkimustietoa maatalouden biokaasulaitosten hajoamisprosessin optimointiin ja auttaa siltä osin viemään Suomea kohti puhtaampaa energiantuotantoa ja parempaa ravinnekiertoa.

## 2 LIETELANTA BIOKAASUPROSESSISSA

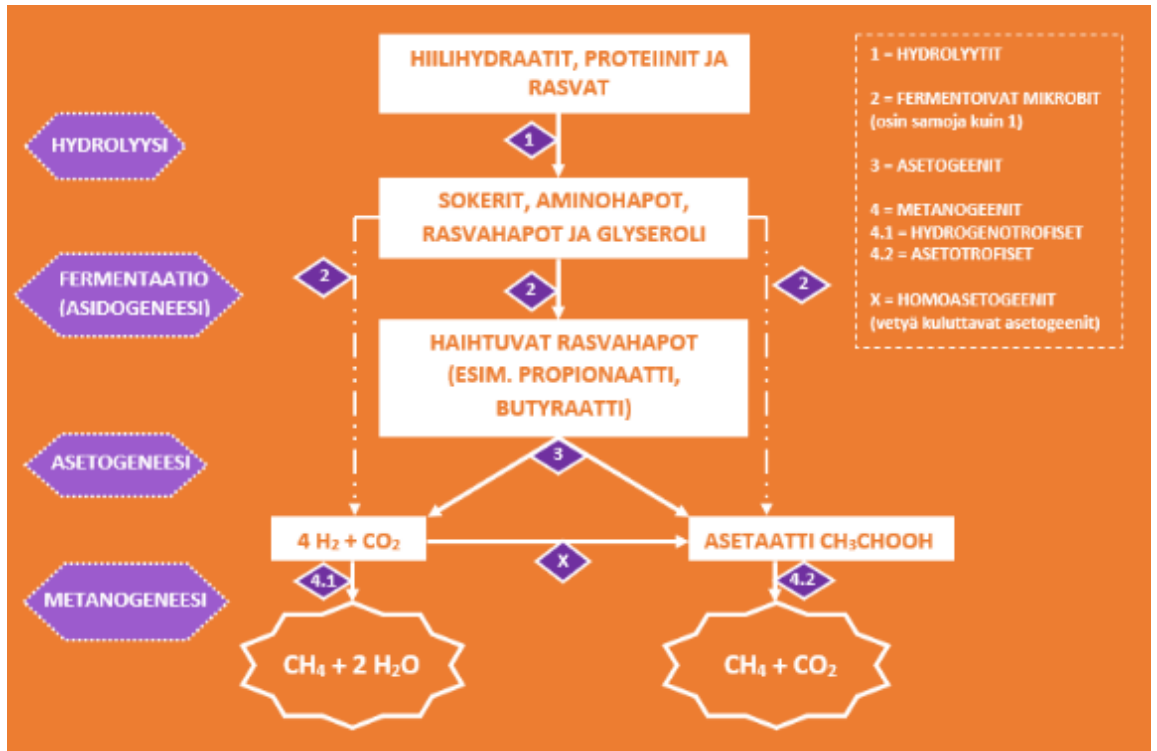
Lanta on jätettä, joka sellaisenaan on ympäristölle – erityisesti vesistöille - haitallista. Sitä voidaan hyödyntää peltojen lannoitteena, mutta sen levitettävyyden on epäorgaanisiin vastineisiin nähden hankalaa. Lisäksi sen korkea fosforipitoisuus typpipitoisuuteen nähden on kasveille epäedullinen. Käsittelemällä lantaa biokaasuprosessissa parannetaan sen typen ja fosforin suhdetta sekä saadaan ravinteet takaisin kiertoon maaperään niin, etteivät ne päädy pelloilta valumana rehevöittämään vesistöjä. Lantaa mädättämällä tuotetaan myös energiaa tilan omaan käyttöön tai myytäväksi, jolloin maatalouden kokonaiskannattavuus paranee.

Biokaasun käytön yleistymisen on sen hyödyistä huolimatta tapahtunut Suomessa melko hitaasti - vuonna 2017 biokaasutuotannosta saatiin energiaa 1 TWh eli vain noin kymmenesosan tuotannon potentiaalista (Virolainen-Hynnä 2019; Eduskunta 2017). Lietelanta soveltuu ominaisuuksiltaan biokaasuprosessiin melko hyvin ja sitä on saatavissa paljon, jatkuvasti ja melko tasalaatuisena. Tästä syystä Maa- ja metsätalousministeriö arvioi (2019), että vuoteen 2030 mennessä lannan biokaasukäsittelyllä voitaisiin tuottaa energiaa jo 1,75 TWh vuosittain. Tällä hetkellä Suomessa on noin 20 maatalouden biokaasulaitosta, joissa pääasiallisena substraattina on lanta (Biokaasun tuotanto maatilalla, 8).

### 2.1 Anaerobinen hajoaminen

Biokaasua syntyy, kun mikrobit hajottavat orgaanista ainesta hapettomassa tilassa. Hajottamisessa työskentelee erilaisia mikro-organismeja, jotka kaikki ovat välttämättömiä prosessin onnistumiseksi. Energiasisällöltään biokaasun tärkeintä kaasua – metaania - saadaan hajoamisessa neljän vaiheen kautta (kuva 1).





Kuva 1. Anaerobinen hajoaminen, sen vaiheet ja siihen osallistuvat bakteerit. (Muokattu lähteistä: Wellinger ym. 2013, 106-108; Kymäläinen & Pakarinen 2013, 61-63)

Hajottamisen aluksi pilkotaan orgaanisen aineksen suuret molekyylit, kuten pitkäketjuiset hiilihydraatit, proteiinit ja rasvat, jotta niiden sisältämä hiili olisi helpommin mikrobin saatavilla. Tätä hajottamisen ensimmäistä vaihetta kutsutaan hydrolyysiksi. Vaiheessa työskentelevät hydrolyyttiset bakteerit, jotka eivät kuitenkaan itse kykene hajottamaan näitä molekyyleja. Ne tuottavat ja välittävät entsyymejä, jotka hajottavat suuret molekyylit monomeereiksi, kuten sokereiksi, rasvahapoiksi ja aminohapoiksi. (Wellinger ym. 2013, 106)

Fermentaatiossa hydrolyysivaiheen tuotteita hajottavat fermentoivat mikrobit. Nämä mikrobit muuttavat käymisreaktioina edellisestä vaiheesta saadut sokereit, rasvahapot ja aminohapot lähinnä haihtuviksi rasvahapoiksi (VFAs), kuten propionaatiksi ja butyraatiksi sekä glyseroliksi. Käymisreaktioiden sivutuotteena syntyy myös hiilidioksidia. Fermentoivat mikrobit voivat lisäksi muodostaa aminohapoista suoraan metaanin esiasteita asetaattia ja vetyä. Toisesta vaiheesta saatavat tuotteet vaihtelevat kuitenkin paljon riippuen syötteistä, olosuhteista ja vallitsevasta mikrobipopulaatiosta. (Wellinger ym. 2013, 106)

Kolmannen vaiheen eli asetogeneesin tarkoitus on muuttaa haihtuvat rasvahapot hiilidioksidiksi sekä metaanin valmistusaineiksi – vedyksi ja asetaatiksi.

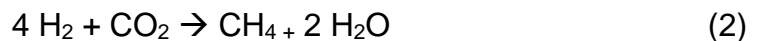
Vaikka vety on yksi asetogeenien omista tuotteista, on se niille myrkyllistä. Niiden tulee siis toimia yhdessä vetyä kuluttavien bakteerien, kuten vedystä metaania muodostavien metanogeenien, kanssa. Hajotuksessa on mukana myös vetyä kuluttavia asetogeenejä (homoasetogeenejä), jotka metanogeenien kanssa ylläpitävät prosessin alhaista vedyn osapainetta. (Wellinger ym. 2013, 107)

Metaania saadaan viimeisestä vaiheesta - metanogeneesistä. Prosessista voidaan erottaa pääasiassa kaksi reittiä, joiden kautta metaania muodostuu. Suurin osa, noin 70 % (Kymäläinen & Pakarinen 2013, 62-63), prosessin metaanista saadaan asetotrofisten metanogeenien muuttaessa asetaattia metaaniksi ja hiilidioksidiksi (yhtälö 1).



(Wellinger ym. 2013, 107)

Hydrogenotrofiset metanogeenit tuottavat vedystä ja hiilidioksidista metaania ja vettä (yhtälö 2). Metaanintuoton lisäksi hydrogenotrofiset metanogeenit mahdollistavat asetogeenien toimimisen tasoittamalla vedyn määrää prosessissa (Wellinger ym. 2013, 107).



(Wellinger ym. 2013, 107)

## 2.2 Biokaasuprosessin olosuhteet

Mädätyksessä työskentelevät mikrobit ovat anaerobisia tarkoittaen sitä, että happi on niille myrkyllistä. Tämän vuoksi tärkein olosuhde biokaasuprosessissa on ehdoton hapettomuus. Prosessissa tulee myös olla mikrobien kasvua ja elämistä varten tarpeeksi ravinteita.

Yksi merkittävimmistä tekijöistä on myös lämpötila. Biokaasuntuotto voi tapahtua mesofiilisesti (35-34 °C) tai termofiilisesti (50-55 °C). Mesofiilinen mädätys on yleisemmin käytössä ja siinä tapahtuva hajoaminen on termofiiliseen verrattuna hitaampaa ja myös vakaampaa (Uzodinma ym. 2007). Termofiilisellä mädätyksellä saadaan biokaasua usein nopeammin ja enemmän (Moset ym.

2015), mutta korkeamman lämpötilan ylläpito edellyttää suurempaa energiankäyttöä, jolloin todellinen hyöty saattaa kadota. Biokaasuprosessin mikrobit, erityisesti metanogeenit, ovat herkkiä lämpötilavaihteluille. Tarkkaa lämpötilaa tärkeämpää onkin ylläpitää mahdollisimman tasaista lämpötilaa – pitäen vaihtelut suurimmillaan +/- 2 °C (Kymäläinen & Pakarinen 2013, 63-64).

Anaerobinen hajoaminen riippuu myös prosessin pH:sta, joka tyypillisesti on lähellä neutraalia (pH 7-8). Tällä pH-alueella kaikki prosessin eri mikrobit pysyvät toimimaan, mutta optimaalisimmat olosuhteet ovat niille hieman erilaiset: alkuvaiheen mikrobeille optimaalisin pH on 4,5-6,5 ja metanogeenille 6,7-8,5. Tästä syystä joissain biokaasulaitoksissa hajoamisprosessi jaetaan kahteen vaiheeseen. Tällöin kahteen eri reaktoriin asetetaan pH:t sen mukaan työskenteleekö siellä hydrolyytit ja fermentoivat mikrobit vai asetogeenit ja metanogeenit (Wellinger ym. 2013, 90-91). Kuten lämpötilan, tulee pH:nkin pysyä mahdollisimman tasaisena. Lietelannan mädätyksessä on hyötyä sen hyvällä puskurikyvyllä. Tällä tarkoitetaan sitä, että se kykenee tehokkaasti neutraloimaan hajoamisessa muodostuvia happoja estäen niiden vaikutuksen pH-arvoon (Kymäläinen & Pakarinen 2013, 36).

## **2.3 Lietelannan ominaisuudet substraattina**

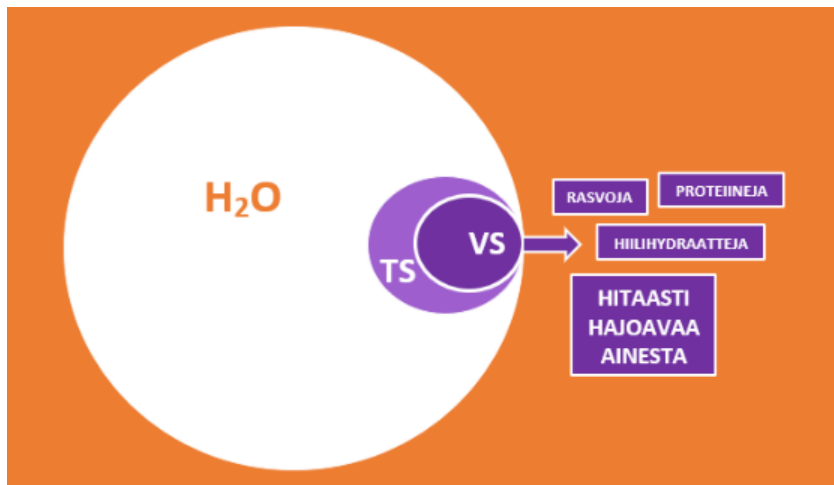
Lietelannan fysikaalinen, kemiallinen ja biologinen koostumus on monen tekijän summa. Maatalouseläimet erittävät pääosan, jopa 90%, kulutetusta ravinnosta - riippuen siitä, missä kasvuvaiheessa ne ovat ja tuottavatko ne esimerkiksi maitoa (Properties of Manure 2015). Lannan koostumukseen ja ominaisuuksiin vaikuttaa siis paljon se, mitä eläimille syötetään sekä kuinka paljon ne juovat vettä. Tämän lisäksi lietelantaan päätyy navetan pesun ja eläinten hoidon yhteydessä vettä, rehuja ja vierasaineita, jolloin myös nämä tekijät vaikuttavat suuresti siihen, minkälaista raaka-ainetta biokaasuprosessiin saadaan.

### **2.3.1 Kuiva- ja orgaaninen aines**

Biokaasuprosesseihin käytettävät raaka-aineet koostuvat vedestä sekä kuivasta aineesta. Tätä kokonaisuutta kuvataan termillä märkäpaino. Kuivan aineksen pitoisuudelle käytetään yleisesti lyhennettä TS (total solids). Kuivan

aineksen osuutta tarkennetaan myös raaka-aineen sisältämällä orgaanisen aineksen määrällä. Tähän käytetään lyhennettä VS (volatile solids). Metaanintuoton kannalta tärkeää on huomioida erityisesti se, kuinka helposti orgaaninen aine hajoaa: lyhytketjuiset hiilihydraatit, proteiinit ja rasvat hajoavat suhteellisen nopeasti, mutta useiden kasvien rakennusaineena toimivan selluloosan anaerobinen hajoaminen voi viedä useita viikkoja (Wellinger ym. 2013, 35). Kuivan- ja orgaanisen aineksen lisäksi vesi on välttämätöntä prosessin mikrobeille. Se myös helpottaa raaka-aineen käsittelyä ja sekoittumista reaktorissa.

Lietelanta on pääosin vettä (kuva 2), sillä sen seassa on ulosteen ja virtsan lisäksi esimerkiksi navetan pesuvedet. Tyypillisesti sen TS-pitoisuus on noin 6-8 % ja tästä noin 80-85 % on orgaanista ainesta (Wellinger ym. 2013, 21-23).



Kuva 2. Lietelannan koostumus yksinkertaistettuna

Suuri osa lannan orgaanisesta aineksesta on suhteellisen hitaasti hajoavaa, sillä eläimet - erityisesti lehmät - hyödyntävät pääosan syömänsä rehun helposti hajoavasta aineksesta ruoansulatuksessa. (Kymäläinen & Pakarinen 2013, 36). Lietelannan seassa on myös vaihtelevia määriä olki- ja kuitupartikkeleita, jotka sisältävät runsaasti hitaasti hajoavia kasvien rakennusaineita (Wellinger ym. 2013, s. 23).

### 2.3.2 Metaanintuotto

Biokaasun tuotannossa pyritään mahdollisimman korkeaan metaanipitoisuuteen, sen sisältämän energian vuoksi. Metaanin ja hiilidioksidin määrät riippuvat substraatin orgaanisen aineen koostumuksesta. Pelkistä hiilihydraateista tuotetussa biokaasussa metaania ja hiilidioksidia on suunnilleen yhtä paljon. Mitä enemmän substraatissa on proteiineja ja rasvoja, sitä suuremmaksi metaanipitoisuus nousee. Suurimmillaan metaanipitoisuus on yleensä 70 % luokkaa. (Kymäläinen & Pakarinen 2015, 29)

Lietelannan mädätyksestä saadun biokaasun metaanipitoisuus on yleensä korkeampi verrattuna esimerkiksi pääasiassa hiilihydraattia sisältäviin kasvi-biomassoihin. Naudanlannan mädätyksestä saatavasta biokaasusta metaania on yleensä noin 60 % (Biokaasun tuotanto maatilalla 2013, 10). Matalasta TS-pitoisuudesta ja orgaanisen aineksen kohtalaisen huonosta hajoavuudesta johtuen lietelannan metaanintuotto ei kuitenkaan ole kovin korkea verrattuna esimerkiksi olkeen tai biojätteeseen (taulukko 1).

Taulukko 1. Lehmän lietelannan, oljen ja biojätteen viitteelliset metaanintuotot. (Kymäläinen & Pakarinen 2015, 36-40)

Substraatti	Metaania (l/kg)	Metaania (l/kgVS)
Lehmän lietelanta	10-20	120-300
Olki	199-260	240-320
Yhdyskuntabiojäte	-	350-500

Metaanintuoton parantamiseksi lietelannan sekaan lisätään usein enemmän orgaanista ainesta sisältäviä raaka-aineita, kuten kasvien jäämiä. Jo pieni määrä lisäsyötettä voi kasvattaa metaanintuottoa merkittävästi (Kymäläinen & Pakarinen 2015, 39). Tällaisessa yhteismädätyksessä saadaan aikaiseksi tehokkaampi, mutta myös vakaampi hajotusprosessi, sillä tällöin reaktorissa on enemmän aktiivista biomassaa, joka kestää paremmin prosessia vahingoittavia aineita (Wellinger ym. 2013, 24).

### 2.3.3 Ravinteet

Anaerobisessa hajoamisessa työskentelevät mikro-organismit tarvitsevat erilaisia makro- ja mikroravinteita energialähteiksi, solujen rakennusaineiksi sekä

entsyymitoiminnan ylläpitämiseksi (Kymäläinen & Pakarinen 2015, 26). Syötteessä olevien ravinteiden kohdalla tärkeää ei ole vain oikeiden ravinteiden määrät vaan niiden suhteet keskenään sekä niiden saatavuus mikrobeille.

Yksi keskeinen raaka-aineen ominaisuus on hiilen ja typen välinen suhde (C/N). Liian matala suhdeluku aiheuttaa prosessia vahingoittavan ammoniakkin pitoisuuden nousemisen, kun ylimääräinen typpi hajoaa. Liian suuri luku taas kertoo, että typpeä on liian vähän ja tämä voi aiheuttaa mikrobeille typen puutetta. Mikrobien solun rakenteessa hiili-typpi -suhde on noin 22 (Wellinger ym. 2013, 78) ja tätä mukailee myös syötteen optimaaliseksi suhteeksi esitetty 15-25 (Kymäläinen & Pakarinen 2015, 26). Prosessi voi kuitenkin toimia hyvinkin erilaisilla suhdeluilla, sillä substraateista analysoidut typen ja hiilen määrät eivät kerro sitä, kuinka helposti typpi on mikro-organismeille saatavissa.

Pääravinteiden lisäksi mikrobit tarvitsevat tiettyjä hivenaineita. Hydrolyysivaiheen mikrobeille välttämättömiä ovat sinkki (Zn), kupari (Cu) sekä mangaani (Mn). Metanogeeniset bakteerit taas tarvitsevat nikkeliä (Ni), kobolttia (Co), molybdeeniä (Mo), rautaa (Fe), seleeniä (Se) sekä wolframia (Wo). Vaikka hivenaineet ovat prosessille välttämättömiä, ovat useat niistä liian suurina pitoisuuksina haitallisia. (Kymäläinen & Pakarinen 2015, 26)

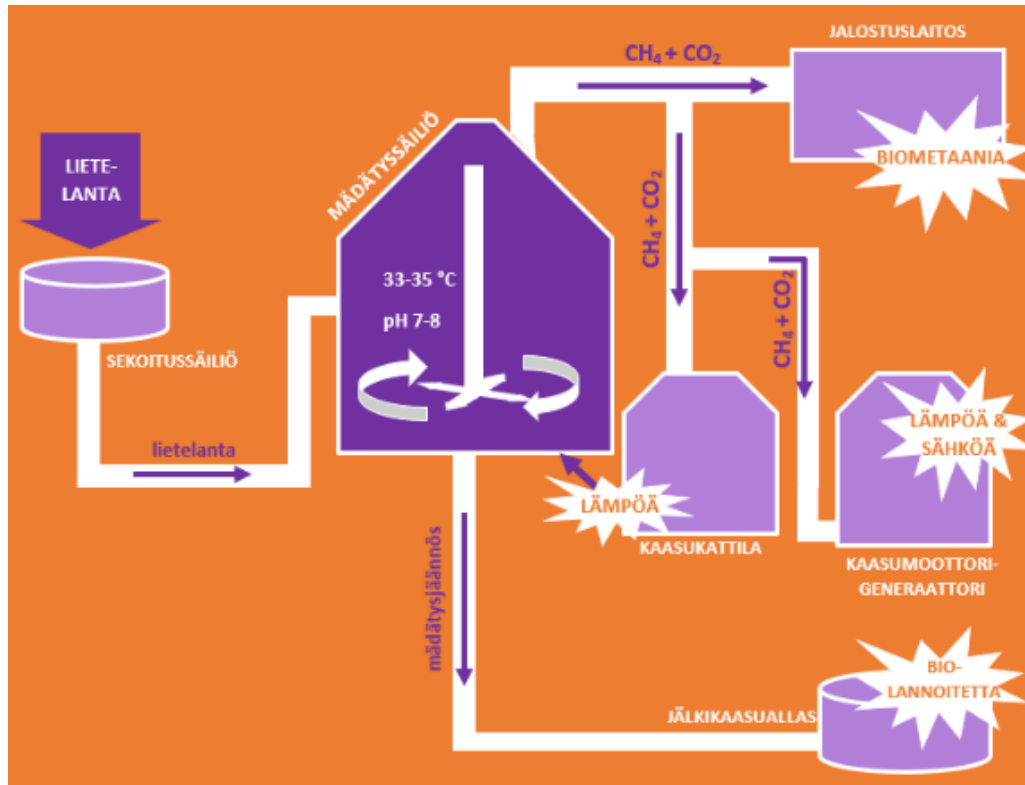
Koska maatalouseläimet erittävät lähes kaiken saamansa ravinnon ulosteena, lietelannassa on pääravinteita ja hivenaineita luontaisesti paljon, kattaen mikrobien tarpeet. Naudan lietelannan hiili-typpi -suhdekin on yleensä prosessille sopiva. (Wellinger ym. 2013, 78)

## **2.4 Lietelannan mädätys biokaasulaitoksessa**

Lietelanta johdetaan biokaasuprosessiin mahdollisimman pian sen muodostuttua, jotta orgaanista ainetta tai typpeä ei ehdi poistua siitä kaasuna. Yleensä sitä ei siis esikäsitellä sekoitusta kummemmin, vaan se kerätään esisäiliöön, josta se johdetaan biokaasuprosessiin. (Kymäläinen & Pakarinen 2013, 48)

Biokaasun tuottaminen tapahtuu käytännössä substraatin kuiva-ainepitoisuudesta riippuen joko märkä- tai kuivaprosessilla. Lietelantaa käsitellään usein kuvan 3 mukaisessa yksivaiheisessa mesofiilisessa

märkäprosessissa (Wellinger ym. 2013, 3). Laitosten tyypit ja koot voivat kuitenkin vaihdella paljon - erityisesti, mikäli lietelantaa mädätetään yhdessä maatalouden muiden sivuvirtojen, kuten rehujen kanssa.



Kuva 3. Esimerkki lietelannan märkämädätyslaitoksesta, jossa mädätys tapahtuu mesofiilisessa, jatkuvasekoitteisessa mädätysäiliössä. (Muokattu lähteestä: Biokaasun tuotanto maatilalla 2013, 15)

Biokaasulaitoksen pääasiallisimpana edellytyksenä on, että se täyttää anaerobisen hajoamisen vaatimat olosuhteet. Koska anaerobisessa hajoamisessa syntyvä energia sitoutuu pääasiassa metaaniin, tarvitsee prosessi yleensä ulkoisen lämmönlähteen. Prosessin biokaasusta tuotettua lämpöenergiaa hyödynnetään usein reaktorin lämmitykseen. Oikeiden olosuhteiden ohella tärkeää on sekoittuminen, jotta mikrobit pääsevät kosketuksiin mahdollisimman suureen osaan syötettä. Hyvällä sekoituksella vaikuttaa myönteisesti myös olosuhteiden tasaisuuteen.

Syötettävän raaka-aineen määrä lasketaan sen orgaanisen aineen (VS) määrän ja reaktorin tilavuuden perusteella. Reaktorin orgaanisella kuormituksella (Organic loading rate, ORL) tarkoitetaan sitä orgaanisen aineksen määrää, joka reaktorin tilavuutta kohden syötetään vuorokaudessa. Jos tiedetään, kuinka paljon orgaanista ainesta prosessiin voidaan vuorokaudessa syöttää, tulee reaktorin tilavuus määrittää sen mukaan. Sopiva

raaka-aineen syöttötahti ja -määrä on silloin, kun orgaanista kuormitusta on tarpeeksi. Reaktoritilavuus on tällöin tehokkaasti käytössä, mutta ei kuitenkaan niin, että sen metabolinen kapasiteetti ei enää kykene hajottamaan ainesta. Pelkkää lantaa käyttävissä reaktoreissa kuormitus on Suomessa yleisesti 2-3 kgVS/m<sup>3</sup>reaktoritilavuus/vrk. (Kymäläinen & Pakarinen 2015, 72-73)

Viipymäajalla takoitetaan sitä aikaa, jonka aines on reaktorissa hajoamassa ennen sen jatkamista matkaa mädätysjäännöksen jalostukseen. Viipymäaikaan vaikuttaa luonnollisesti se, kuinka helposti syötteen orgaaninen aines hajoaa. Viipymäaika määritettäessä on otettava huomioon, että asetotrofiset metanogeenit kasvavat hitaasti, jolloin liian lyhyt viipymäaika saattaa johtaa niiden uloshuuhtoutumiseen. Pitkällä viipymäajalla voidaan saavuttaa aineksen täydellinen hajoaminen, mutta se vaatii myös suurta säiliötilavuutta, vaikuttaen biokaasulaitoksen taloudellisuuteen nostamalla käyttökuluja (Kymäläinen & Pakarinen 2013, 75). Kun mädätetään pelkkää lantaa biokaasulaitoksessa, jossa on vain yksi reaktori, on yleensä käytössä noin kuukauden viipymäaika (Biokaasun tuotanto maatilalla 2013, 11).

Viipymäajan päätteeksi jäljelle jäänyt hajoamaton aines, eli mädätysjäännös, johdetaan usein jälkikaasualtaaseen, sillä se saattaa vielä tuottaa metaania, joka kerätään talteen. Mädätysjäännös koostuu hajoamattomasta materiaalista eli syötteenä käytettyjen materiaalien sisältämistä ravinteista, kuten typestä, fosforista ja kaliumista. Jäännös soveltuu sellaisenaan käytettäväksi lannoitteena. (Kymäläinen & Pakarinen 2015, 18)

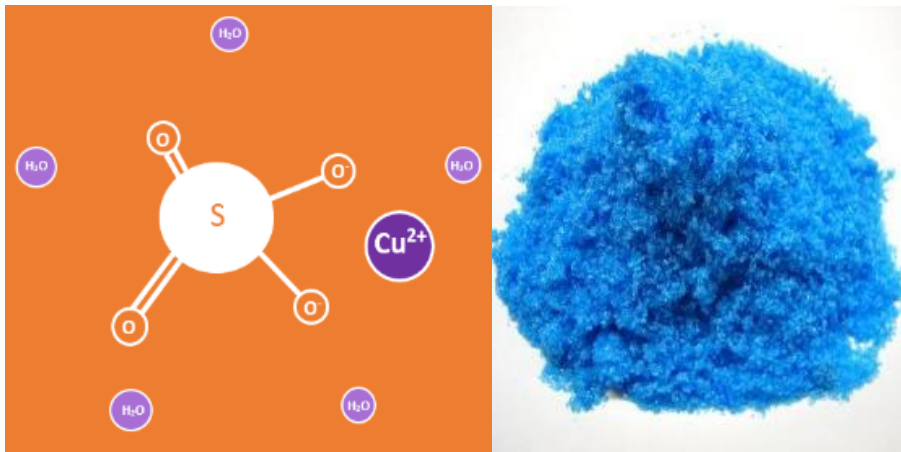
### **3 TUTKITUT KEMIKAALIT**

Biokaasuntuotto saattaa häiriintyä, vaikka kaikki sen tarvitsemat olosuhteet ja syötteen koostumukset olisivatkin kunnossa. Prosessiin saattaa päätyä joko syötteen mukana tai mikrobien omina aineenvaihduntatuotteina prosessia vahingoittavia, eli inhiboivia, aineita. Kuparisulfaattia ja amoksisilliinia käytetään melko laajasti maataloudessa eläinten hoitoon, jolloin riski niiden päätymisestä biokaasuprosessiin on melko suuri.



### 3.1 Kuparisulfaatti

Kuparisulfaatti on epäorgaaninen suola, joka yleisesti esiintyy kiteisenä pentahydraattina (kuva 4). Se on Euroopan unionin lainsäädännössä luokiteltu sekä ihmisille että ympäristölle myrkylliseksi kemikaaliksi. Kuparisulfaatti on reaktiivista ainoastaan kosteana, joten se on erityisen vaarallista vesieliöille, kuten kaloille ja vesikasveille, aiheuttaen pitkäaikaisiakin haittavaikutuksia vesiympäristössä. (Kuparisulfaatti, FEED 2014)



Kuva 4. Kupari-(II)-sulfaatti, pentahydraatti ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ ). (Oikeanpuoleisen kuvan lähde: KeraSil Oy 2018).

Kuparisulfaattia käytetään useissa erilaisissa teollisissa toiminnoissa, kuten maalien valmistuksessa sekä metalli- ja kaivosteollisuudessa. Maataloudessa hyödynnetään kuparisulfaatin kykyä tuhota bakteeri- ja sienitauteja: sitä käytetään kasvien torjunta-aineena ja sillä hoidetaan esimerkiksi lampaiden ja karjaeläinten sorkka-alueen ihotulehduksia. (Copper Development Association 2018)

Lietelantaan kuparisulfaattia päätyy pääasiassa eläinten sorkkien hoidon yhteydessä. Hoidossa käytetään kupariliuosta, joka valmistetaan vedestä ja jauhemuotoisesta kuparisulfaatista (Sandelin 2015). Hoito toteutetaan niin sanotuilla sorkkakylvyillä, joiden läpi eläimet kulkevat esimerkiksi matkalla ulos navetasta. Kuparisulfaatin määrään lietelannassa vaikuttaa pääasiassa se, kuinka voimakasta liuosta hoitoon käytetään. Sekä Sandelinin (2015) tutkimuksessa että Helsingin Yliopiston (2015) ohjeessa sorkkakylvyn kuparisulfaatin pitoisuudeksi on esitetty 5 %, tarkoittaen sitä, että 5 kg kuparisulfaattia on laimennettu 95 litralla vettä.

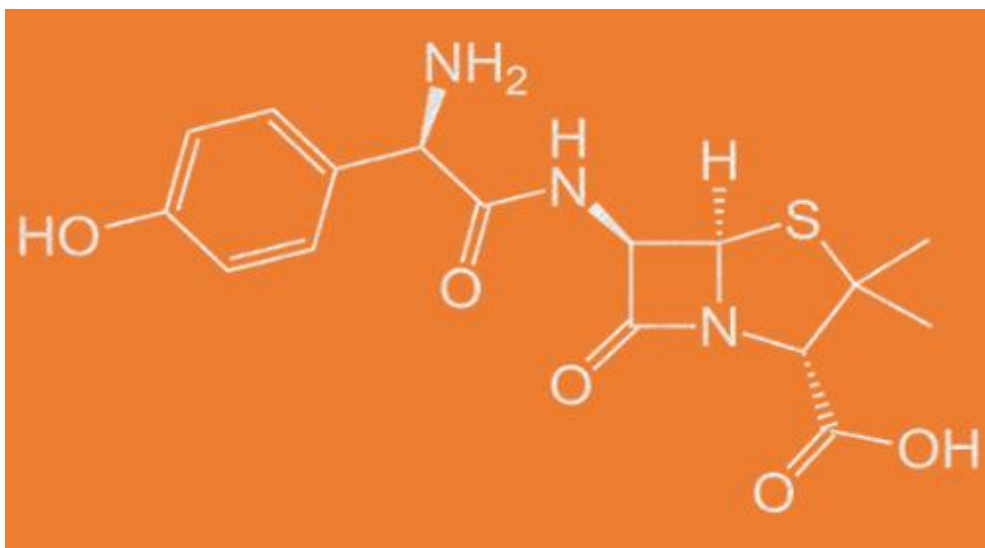
Aikaisempaa tutkimustietoa kuparisulfaatin vaikutuksesta anaerobiseen hajoamiseen ei löydy. Kuparisulfaatti on liukoinen vedessä, joten sen vaikutuksiin voidaan soveltaa tutkimuksia, joissa kuparin ja sulfaatin erillisiä vaikutuksia biokaasuprosessiin on selvitetty.

Kupari on anaerobisen hajoamisen mikrobeille välttämätön hivenaine, mutta liian suurena määränä se saattaa olla vahingollista (Kymäläinen & Pakarinen 2015, 26). Lin (1992) on osoittanut kuparin vaikuttavan negatiivisesti hajoavien rasvahappojen hajottamiseen eli prosessin asetogeenien toimintaan. Toisessa tutkimuksessa Lin (1993) on havainnut kuparin vaikuttavan myös hajoavien rasvahappojen tuottamiseen eli fermentoivien bakteerien toimintaan. Inhiboiva vaikutus fermentoiviin bakteereihin on löydetty myös Yenigün ym. (1996) tutkimuksessa.

Myös sulfaatilla on inhiboiva vaikutus biokaasuntuotantoon. Kun sulfaattipitoisuus prosessissa kasvaa, niitä pelkistävien bakteerien toiminta lisääntyy ja ne muodostavat asetaatista ja vedystä metaanin sijasta rikkivetyä ( $H_2S$ ) sekä hiilidioksidia. Rikkivety on prosessille toksista ja sen pitoisuusrajaksi on esitetty arvoja välillä 30-400 mg/litra. Sulfaattia pelkistävät bakteerit kilpailevat samoista orgaanisista lähtöaineista metanogeenien ja fermentoivien mikrobien kanssa ja voivat myös näin mahdollisesti häiritä metaanin tuottoa. Lisäksi sulfidi ( $S^{2-}$ ) -ionit voivat muodostaa saostumia prosessille välttämättömien hivenaineiden kanssa, estäen niiden saatavuuden mikrobeille. (Kymäläinen & Pakarinen 2015, 68-71)

### **3.2 Amoksisilliini**

Amoksisilliini (kuva 5) on antibiootti, joka luokitellaan penisilliinin johdannaisiin. Antibioottina sen tehtävä on tuhota taudinaiheuttajabakteereita ja tämän se tekee estämällä bakteerin soluseinän rakentamisessa tarvittavan peptidoglykaanin synteesin. Amoksisilliini on yksi yleisimmin käytetyistä antibiooteista ihmis- ja eläinlääketieteessä.



Kuva 5. Amoksisilliini ( $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ ).

Maataloudessa amoksisilliinillä hoidetaan eläinten erilaisia tulehdussairauksia, kuten keuhkokuumetta. Naudan kaltaisten märehitijöiden kohdalla antibioottilääkehoito on ongelmallista, sillä niiden maksan vierasainemetabolia on hyvin kehittynyt. Tämän vuoksi ne eliminoivat nopeasti maksassa metaboloituvia lääkeaineita. Myös lääkkeiden annosteleminen suun kautta on märehitijöillä hankalaa: lääkkeet laimenevat suureen nestemäärään ja pötsin mikrobit inaktivoivat monia lääkeaineita. Tämän vuoksi lääkettä annostellaan naudoille injektioina (pistoksina) lihakseen tai ihon alle. (Evira 2009, 14)

Amoksisilliini ei täysin hajoa eläimen elimistössä - Massé ym. (2014) mukaan jopa 70-90% eläimille annetuista antibiooteista erittyy ulosteen ja virtsan mukana muuttumattomina tai aktiivisina aineenvaihduntatuotteina. Mikäli lääkettä annetaan esimerkiksi maitoa tuottavalle lehmälle, erittyy sitä myös maitoon. Tämä maito ei kuitenkaan ole ihmisille juomakelpoista, joten sekin päättyy lietalannan sekaan.

Amoksisilliinin mahdolliseen pitoisuuteen biokaasuprosessissa vaikuttaa pääasiassa se, kuinka monta eläintä on lääkinnässä ja, kuinka suurta annosmäärää hoitoon käytetään. Ramos ym. (2012) on tehnyt selvityksen YK:n ruoka- ja maatalousorganisaatiolle (Food and Agriculture Organization of the UN, FAO), jossa amoksisilliinin päivittäiseksi annosmääräksi on esitetty 5,7-9,6 mg/ kg naudnan kehonpainosta.

Biokaasun- ja metaanintuotto riippuu hajoamisen mikrobeista, joten antibiootien vaikutuksen biokaasuprosessiin voisi olettaa olevan selkeä. Esimerkiksi Nuengjamnong ym. (2010) havaitsivat amoksisilliinin häiritsevän sikojen jäteveden biokaasun- ja metaanintuottoja. Huomiona oli erityisesti inhiboiva vaikutus hajoamisen alkuvaiheen mikrobeihin, sillä haihtuvien rasvahappojen (VFAs) määrä väheni, mitä enemmän amoksisilliiniä substraattissa oli. Myös Lallai ym. (2002) tekemässä tutkimuksessa amoksisilliinin vaikutus sikojen jäteveden metaanintuottoon oli negatiivinen, vaikkakaan ei yhtä selkeä.

Nuengjamnong ym. (2010) huomasivat inhiboivan vaikutuksen lisäksi, että amoksisilliinin pitoisuudet vähenivät kokeen edetessä niin, että viiden viikon kuluttua ne putosivat lähes olemattomiksi. Tulokset näyttivät kuitenkin, että vaikka amoksisilliinin pitoisuudet putosivat ajan myötä, sen läsnäolo vaikutti koko kokeen aikana kerätyn biokaasun ja metaanin määriin laskevasti. Massé ym. (2014) tutkimuksessa selvitettiin anaerobista hajoamista yhtenä keinona vähentää lannan mukana pelloille päätyviä antibiootteja. Myös tässä tutkimuksessa antibioottien pitoisuuksien huomattiin laskevan. Huomiona mainitaan kuitenkin se, että antibiootit absorboituvat vahvasti lantaan, sillä ne muodostavat kemiallisia yhdisteitä metallien ja orgaanisten aineiden kanssa, tehden niistä hankalasti analysoitavia.

## **4 BIOKAASUN- JA METAANINTUOTON MITTAUS**

Opinnäytetyön tutkimuksen aineisto kerättiin kvantitatiivisesti. Biokaasun- ja metaanintuoton määriä mitattiin 28 vuorokauden ajan sarjapanoskokeena mesofiilissä olosuhteissa Kaakkois-Suomen ammattikorkeakoulun ympäristölaboratoriolla 9.5.- 6.6.2018. Tutkimusta ohjasi DI Tiina Saario.

### **4.1 Syötteen**

Tutkimuksen syötteenä käytettiin naudan lietelantaa, joka oli haettu Juvan Muumaa Oy:ltä 7.5.2018 ja säilytetty kylmiössä. Biokaasuprosessin käynnistämiseksi käytettiin Juva Bioson Oy:n ympäriä (bakteerisiirrettä), jota säilytettiin lämpökaapissa. Ennen kokeen aloittamista kummastakin syöttestä analysoitiin kuivan aineen (TS) ja orgaanisen aineen (VS) pitoisuudet (taulukko 2).

Taulukko 2. Ympin ja lietelannan ominaisuudet.

	TS % märkäpainosta	VS % märkäpainosta	VS % kuivasta aineesta
Ymppi	5,2	3,9	75,1
Naudan lietelanta	9,0	7,8	86,3

TS- ja VS-pitoisuudet määritettiin standardin SFS 3008 mukaisesti. Ensin näytteitä hehkutettiin lämpökaapissa noin 100 °C, jolloin näytteen vesi haihtui jättäen jäljelle kuivan aineen. Kuiva-aines hehkutettiin uudestaan, tällä kertaa 550 °C, jotta saatiin orgaanisen aineen määrä.

#### 4.2 Syötteiden ja tutkittujen aineiden määrät

Kokeen jokaiseen panospulloon punnittiin bakteerisierrettä (ymppiä) 750 g. Lietelannan määrä laskettiin niin, että kaikissa pulloissa olisi yhtä paljon orgaanista ainesta. Yhtälön 3 mukaisesti tarvittavan lannan määrä oli 375 g.

$$x = \frac{VS \text{ g (ymppi)}}{VS \% (\text{lietelanta})} = \frac{29,25 \text{ g}}{0,078} \quad (3)$$

jossa  $x$  = tarvittava lannan määrä (g)

Kuparisulfaatti lisättiin pentahydraattina. Tämän takia laskettiin yhtälön 4 mukaisesti määrä, jota pentahydraattia punnittiin haluttuihin kuparisulfaatin pitoisuuksiin.

$$x = \frac{M(\text{CuSO}_4)}{c \times m \times M(\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O})} \quad (4)$$

jossa  $x$  = tarvittava kuparisulfaatti pentahydraatin määrä (g)

$M(\text{CuSO}_4)$  = kuparisulfaatin moolimassa (mol/g)

$c$  = haluttu pitoisuus

$m$  = lietelannan paino (g)

$M(\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O})$  = kuparisulfaatti pentahydraatin moolimassa (mol/g)

Taulukossa 3 on esitetty punnitut tutkittavien aineiden määrät, jotka sekoitettiin lannan sekaan.

Taulukko 3. Panospulloihin lisätyt amoksisilliinin ja kuparisulfaatin määrät.

	Pitoisuus 1 (0,1 %)	Pitoisuus 2 (0,01 %)
<b>Amoksisilliini</b>	37,5 g	3,75 g
<b>Kuparisulfaatti</b>	58,7 g	5,87 g

Amoksisilliini lisättiin sellaisenaan jauheena, joten sen määrä oikeisiin pitoisuuksiin saatiin laskettua suoraan lietelannan määrästä.

### 4.3 Panospullojen täyttäminen

Biokaasun keräämiseen tarkoitettut kaasupussit merkattiin numeroilla 1-18. Kaikkiin pusseihin kiinnitettiin venttiilillä varustettu muoviputki, jota pitkin biokaasu siirtyi pussiin. Muoviputkissa oli kiinni pieni lasinen pullo. Näihin pulloihin kiinnitettiin ilmatiiviit siniset korkit, joiden läpi pystyi työntämään injektio-kiin metaanipitoisuuksien mittausta varten (kuva 6).



Kuva 6. Kaasupusseihin kiinni menevien muoviputkien valmistelu.

Panospullojen kokonaistilavuus oli 2 litraa. Pullot merkattiin kaasupussien tapaan numeroilla 1-18 ja täytettiin taulukon 4 mukaisesti niin, että kaikkia sisältöjä oli kolme rinnakkaista. Pulloihin 4-18 lisättiin vettä niin, että kaikki pullot oli täytetty 1,5 litraan asti.

Taulukko 4. Panospullojen sisältö.

Pullon nro	Sisältö
1-3	750g ymppeä + 750 ml vesi
4-6	750g ymppeä + 375g lantaa + n. 375g vesi
7-9	750g ymppeä + 375g lantaa (sis. amoksisilliini 0,1%) + n. 375g vesi
10-12	750g ymppeä + 375g lantaa (sis. amoksisilliini 0,01%) + n. 375g vesi
13-15	750g ymppeä + 375g lantaa (sis. kuparisulfaatti 0,1%) + n. 375g vesi
16-18	750g ymppeä + 375g lantaa (sis. kuparisulfaatti 0,01%) + n. 375g vesi

Täyttämisen jälkeen panospulloja sekoitettiin. Pullojen sisällön pH säädettiin neutraaliksi HCl:llä (2M) ja pH:n vakauttamiseksi pulloihin lisättiin vielä puskuri (NaHCO<sub>3</sub>). Pulloista poistettiin happi typpikäsittelyllä: typpikaasua lisättiin kolmen minuutin ajan jokaiselle pullolle kerrallaan, jonka jälkeen korkki suljettiin välittömästi ja varmistettiin, että muoviputken suutin oli varmasti kiinni estäen hapen pääsyn.

Biokaasun keräyspussit kiinnitettiin muoviputkiin ja pullot pusseineen asetettiin lämpökaappiin, jonka lämpötila oli 42 °C (kuva 7).



Kuva 7. Panokset aseteltuna lämpökaappiin.

Muoviputkien ja kaasupussien venttiilit avattiin, jotta kertyvä biokaasu pääsi pusseihin.

#### 4.4 Biokaasuntuoton ja metaanipitoisuuksien seuranta

Panospulloja sekoitettiin varovasti ravistellen päivittäin koko sarjakokeen ajan. Biokaasuntuotto- ja metaanipitoisuusmittaukset tehtiin muutaman päivän välein, yhteensä kuusi kertaa. Mittaukset aloitettiin sulkemalla kaasupussien sekä muoviputkien venttiilit ja irrottamalla kaasupussit.

##### 4.4.1 Vesivaaka

Muodostuneen biokaasun määrä mitattiin ympäristölaboratorion vesivaa'alla (kuva 8). Mittaus tehtiin niin, että kaasupussi kiinnitettiin vaa'an muoviputkeen ja pussin venttiili avattiin. Koska vesivaaka oli ilmatiivis, syrjäytti pussissa oleva kaasu vettä alaspäin.



Kuva 8. Mittauksissa käytetty vesivaaka.



Jokaisen kaasupussin kohdalla kirjattiin ylös kohta, mihin asti vaa'assa oli vettä ennen ja jälkeen mittauksen (liite 1). Kertyneen biokaasun määrä (ml) saatiin laskettua veden pinnan alku- ja loppupisteen erotuksella.

#### 4.4.2 Kaasukromatografi

Syntyneen biokaasun metaanipitoisuudet mitattiin Agilent Technologies 5975C-kaasukromatografilla. Mittaukset aloitettiin laitteen kalibroinnilla: kaasukromatografiin injektoitiin 100 µl standardikaasua, jonka metaanipitoisuus oli 60 % ja hiilidioksidipitoisuus 40 %. Kaasukromatografi muodosti injektioista ns. standardipiikkejä, jotka näkyivät tietokoneella. Standardikaasua injektoitiin niin monta kertaa, että saatiin vähintään viisi yhteneväistä piikkiä.

Standardiliuoksen jälkeen eri panospullojen muodostaman biokaasun metaanipitoisuus määritettiin injektoimalla 100 µl kaasua panospullon korkista lähtevän muoviputken varressa olevan pienen pullon kautta. Tavoitteena oli saada tietokoneelle näkymään jokaista panospulloa kohden kolme selkeää rinnakaista piikkiä. Laite integroi kromatografian antamat piikit ja ilmoitti niiden pinta-alat. Metaanipitoisuudet laskettiin yhtälöllä 5.

$$CH_4(\%) = \frac{\text{Näytepiikin pinta-ala}}{\text{Standardipiikin pinta-ala}} \times 60 \quad (5)$$

Määrityksen jälkeen tietokoneelta tulostettiin saadut piikit (liite 2) sekä niiden pinta-alat (liite 3) tulosten käsittelyä varten.

#### 4.5 Mittaustulosten käsittely

Mittauksista saadut tulokset kirjattiin ylös kuvan 9 mukaiseen Excel-taulukoon. Biokaasun määrät (ml) laskettiin kirjattujen vesivaa'an alku- ja loppupisteiden erotuksilla. Metaanipitoisuudet saatiin laskemalla ensin standardipiikkien pinta-alojen keskiarvo, jota käytettiin laskuissa. Tämän jälkeen kaikkien näytteiden piikkien pinta-alat lisättiin taulukkoon. Oranssille pohjalle laskettiin yhtälön 5 mukaisesti metaanipitoisuudet, vihreällä pohjalle laskettiin pitoisuuksien keskiarvot. Metaanin määrät (ml) saatiin laskettua kertomalla metaanipitoisuuksien keskiarvot vastaavan pullon kerryttämällä biokaasun määrällä.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
1			Ympäri	Lanta		0,1A		0,01A		0,1K		0,01K		
2	METAANI		1 CH4-%	4 CH4-%	7 CH4-%	10 CH4-%	13 CH4-%	16 CH4-%						
3			1,64E+09	9,19448	8,656E+09	48,56367111	5,41E+09	30,3611	9,66E+09	54,2162	7,413E+09	41,5871	1,61E+09	9,05353
4			1,63E+09	9,139746	9,077E+09	50,92260415	5,47E+09	30,7151	9,87E+09	55,3524	7,517E+09	42,1746	1,83E+09	10,2413
5	std		1,6E+09	8,959467	8,838E+09	49,58486602	5,44E+09	30,5475	9,99E+09	56,0222	7,86E+09	44,0954	1,85E+09	10,4016
6	1,013E+10		9,097888		49,69038043		30,5412		55,1963		42,6191		9,89681	
7	1,039E+10		2 CH4-%	5 CH4-%	8 CH4-%	11 CH4-%	14 CH4-%	17 CH4-%						
8	1,098E+10		4,87E+09	27,33432	6,8E+09	38,14932456	8,97E+09	50,3051	9,65E+09	54,1546	5,18E+09	29,0629	7,76E+09	43,5316
9	1,084E+10		5,98E+09	33,52629	8,032E+09	45,06392262	9,04E+09	50,689	9,44E+09	52,9625	5,144E+09	28,8612	8,87E+09	49,7855
10	1,101E+10		4,93E+09	27,63618	6,72E+09	37,25262746	9,17E+09	51,4635	9,73E+09	54,566	4,758E+09	26,6916	8,64E+09	48,4731
11	1,082E+10		29,49693		40,15529155		50,8192		53,8944		28,2052		47,2634	
12	1,069E+10		3 CH4-%	6 CH4-%	9 CH4-%	12 CH4-%	15 CH4-%	18 CH4-%						
13			5,48E+09	30,76637	8,681E+09	48,7034974	9,53E+09	53,4716	8,49E+09	47,6541	7,437E+09	41,7212	6,68E+09	37,4631
14			6,9E+09	38,63756	8,817E+09	49,46381266	9,69E+09	54,3421	8,86E+09	49,7098	6,981E+09	39,1671	6,36E+09	35,6776
15			5,6E+09	31,41613	8,946E+09	50,1873305	9,68E+09	54,3125	8,49E+09	47,6263	7,474E+09	41,3288	6,25E+09	35,0859
16			33,62689		49,45154632		54,0421		48,3301		40,939		36,0756	
17			1 CH4 (ml)	4 CH4 (ml)	7 CH4 (ml)	10 CH4 (ml)	13 CH4 (ml)	16 CH4 (ml)						
18			0		1341,640272		885,696		2345,87		540,633		395,953	
19			2 CH4 (ml)	5 CH4 (ml)	8 CH4 (ml)	11 CH4 (ml)	14 CH4 (ml)	17 CH4 (ml)						
20			353,9871		1222,728628		1016,38		2155,77		761,541		827,11	
21			3 CH4 (ml)	6 CH4 (ml)	9 CH4 (ml)	12 CH4 (ml)	15 CH4 (ml)	18 CH4 (ml)						
22			16,81345		964,3051649		1405,1		1715,72		757,372		36,0756	
23														
24														
25														
26	BIOKAASU		1 BK(ml)	4 BK(ml)	7 BK(ml)	10 BK(ml)	13 BK(ml)	16 BK(ml)						
27			0		2700		2900		4250		1300		4000	
28			2 BK(ml)	5 BK(ml)	8 BK(ml)	11 BK(ml)	14 BK(ml)	17 BK(ml)						
29			1200		3045		2000		4000		2700		1750	
30			3 BK(ml)	6 BK(ml)	9 BK(ml)	12 BK(ml)	15 BK(ml)	18 BK(ml)						
31			50		1950		2600		3550		1850		100	
32														
33														

Kuva 9. Ote mittaustulosten käsittelyssä käytetystä Excel-taulukosta.

Lopullisiin mittaustuloksiin laskettiin rinnakkaisten panospullojen tuottama keskiarvo (kuva 10). Suuret poikkeamat merkittiin punaisella pohjalla, eikä niitä otettu laskuissa huomioon.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
17			1 CH4 (ml)	4 CH4 (ml)	7 CH4 (ml)	10 CH4 (ml)	13 CH4 (ml)	16 CH4 (ml)						
18			0		1341,640272		885,696		2345,87		540,633		395,953	
19			2 CH4 (ml)	5 CH4 (ml)	8 CH4 (ml)	11 CH4 (ml)	14 CH4 (ml)	17 CH4 (ml)						
20			353,9871		1222,728628		1016,38		2155,77		761,541		827,11	
21			3 CH4 (ml)	6 CH4 (ml)	9 CH4 (ml)	12 CH4 (ml)	15 CH4 (ml)	18 CH4 (ml)						
22			16,81345		964,3051649		1405,1		1715,72		757,372		36,0756	
23														
24														
25														
26	BIOKAASU		1 BK(ml)	4 BK(ml)	7 BK(ml)	10 BK(ml)	13 BK(ml)	16 BK(ml)						
27			0		2700		2900		4250		1300		4000	
28			2 BK(ml)	5 BK(ml)	8 BK(ml)	11 BK(ml)	14 BK(ml)	17 BK(ml)						
29			1200		3045		2000		4000		2700		1750	
30			3 BK(ml)	6 BK(ml)	9 BK(ml)	12 BK(ml)	15 BK(ml)	18 BK(ml)						
31			50		1950		2600		3550		1850		100	
32														
33														
34	TULOKSET		Ympäri	Lanta	0,1A	0,01A	0,1K	0,01K						
35			BK (ml)	185,4	1176,22	1102,3918	2072,5	686,52	611,53					
36			CH4 (ml)	625	2565	2500	3933,3	1950	2875					
37														

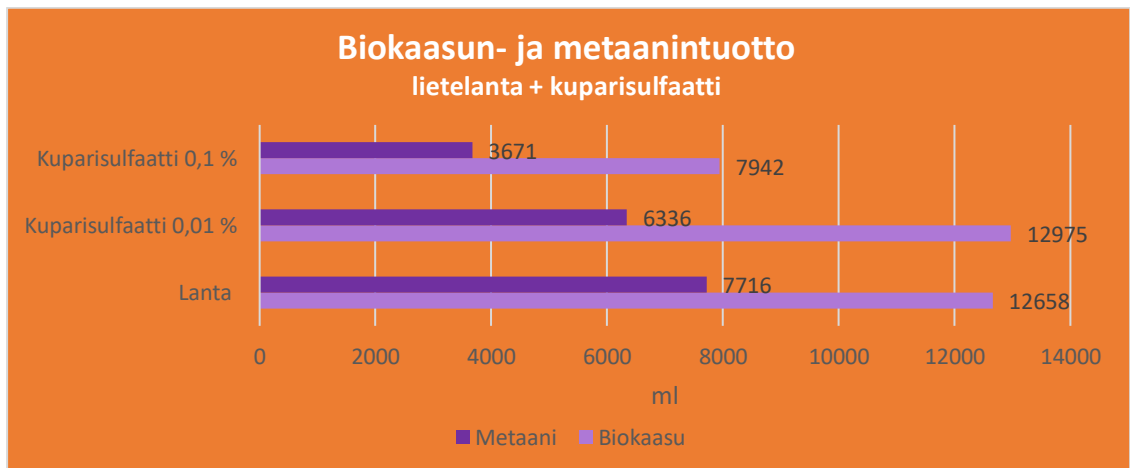
Kuva 10. Ote mittaustulosten käsittelyssä käytetystä Excel-taulukosta.

Tutkimuksessa selvitetiin koko panoskoesarjan aikana kertyvää biokaasua ja metaania, joten saadut tulokset lisättiin aikaisempiin mittauksiin. Tämän jälkeen kaikista tuloksista vähennettiin ympin vaikutus, jotta saatiin näytettyä pelkän lietelannan tuottama biokaasu ja metaani.

## 5 TULOKSET

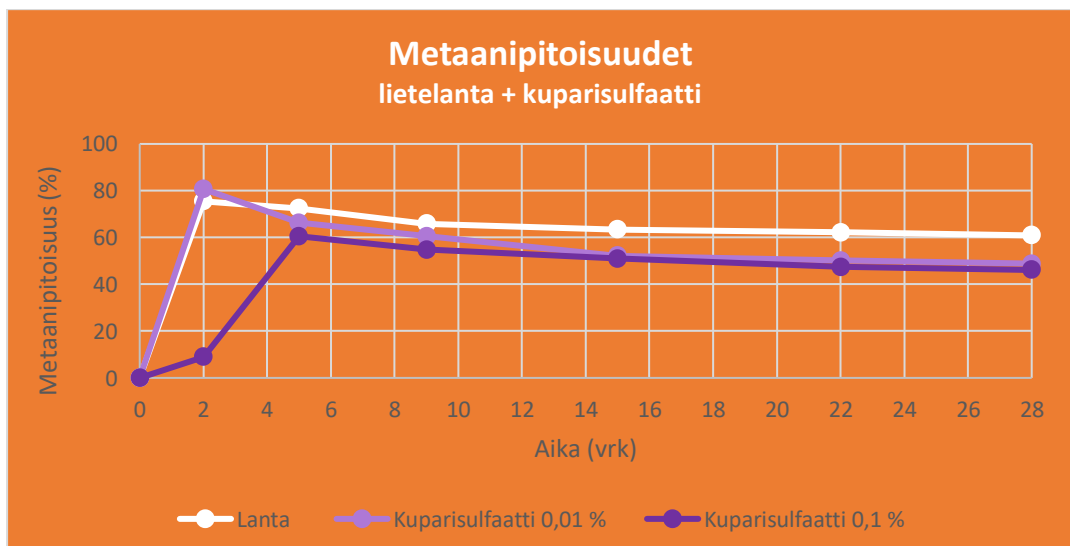
### 5.1 Kuparisulfaatin vaikutus

Metaanin määrä pieneni selkeästi kuparisulfaatin pitoisuuden noustessa (kuva 11). Kuparisulfaatin suurempi pitoisuus vaikutti selvästi myös syntyneen biokaasun määrään, mutta pienemmällä pitoisuudella vastaavaa vaikutusta ei juurikaan näy.



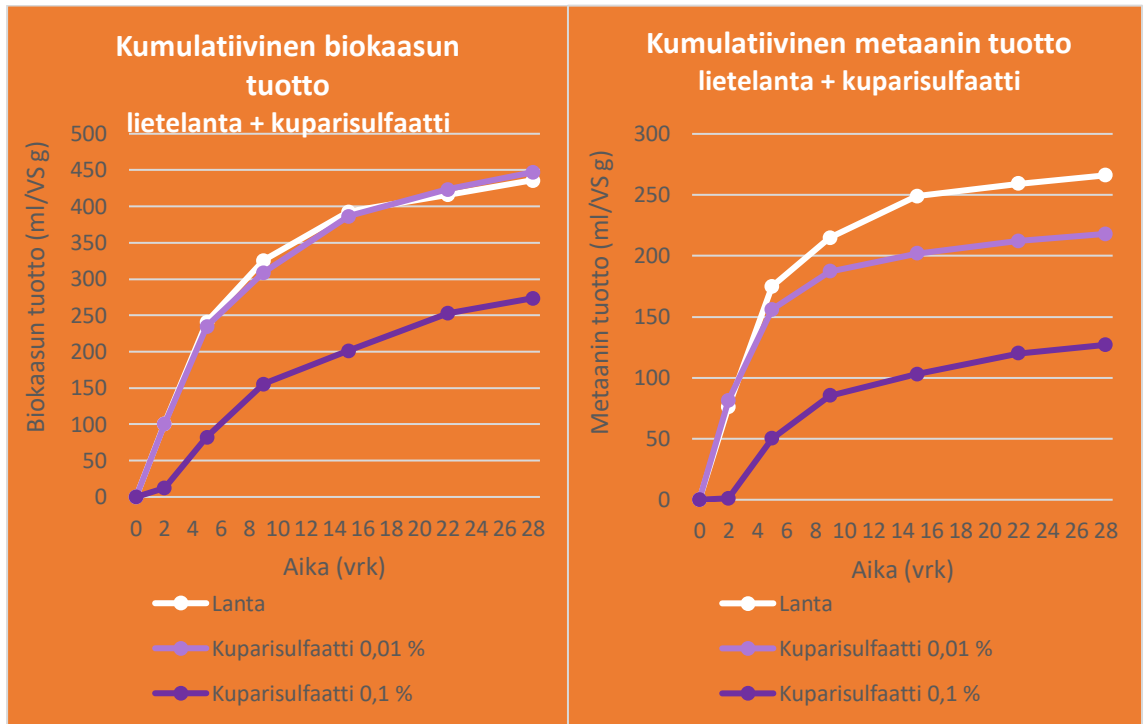
Kuva 11. Panoskokeen aikana kerääntynyt biokaasu ja metaani erilaisilla kuparisulfaatin pitoisuuksilla.

Korkeampi kuparisulfaatin pitoisuus myös hidasti metaanin tuotannon käynnistymistä ja pienensi selkeästi metaanipitoisuutta syntyneessä biokaasussa (kuva 12). Pienemmällä kuparisulfaatin määrällä on 2. vuorokauden kohdalla metaanipitoisuus ollut todella korkea, n. 80 %, joka on kuitenkin lähtenyt tämän jälkeen laskuun.



Kuva 12. Kuparisulfaatin vaikutus metaanipitoisuuteen

Biokaasun ja metaanin tuotot ovat tapahtuneet kuparisulfaatin pitoisuuksilla melko tasaisesti (kuva 13). Pienemmällä pitoisuudella ei ollut juurikaan vaikutusta biokaasun kertymiseen. Suuremmalla pitoisuudella vaikutus taas näkyy selkeästi ja biokaasua on kunnolla alkanut syntyä vasta 2. vuorokauden kohdalla.

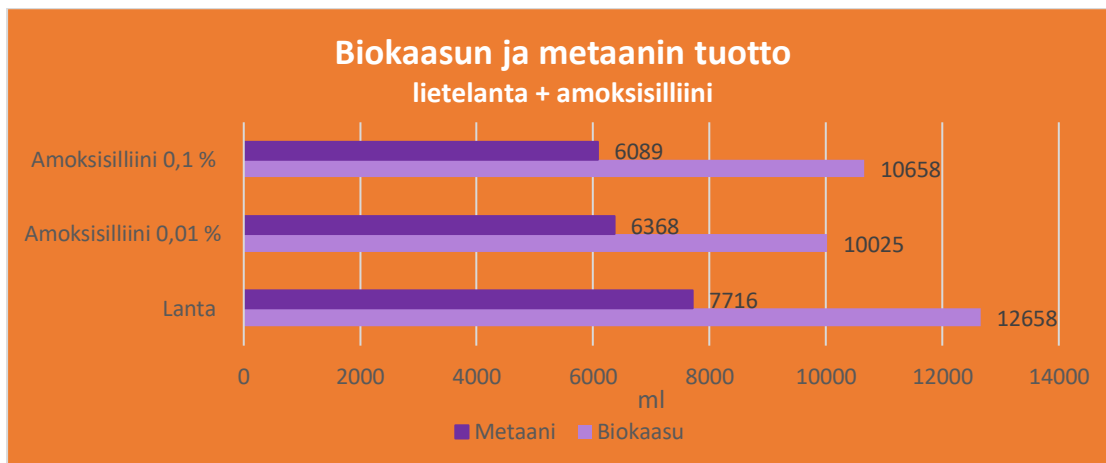


Kuva 13. Biokaasun- ja metaanin kertyminen kuiva-ainegrammaa kohti.

Metaanin tuoton kohdalla pienemmän pitoisuuden vaikutus alkaa noin viiden vuorokauden kuluttua kokeen alkamisesta. Tämän jälkeen metaanin tuotto lähteekin melko nopeasti laskuun. Suuremman pitoisuuden kohdalla nähdään tässäkin vaikutus heti kokeen alusta. Metaanin tuotto alkaa vasta toisen vuorokauden jälkeen ja lähtee pienemmän pitoisuuden tavoin viidennen vuorokauden kohdalla takaisin laskuun.

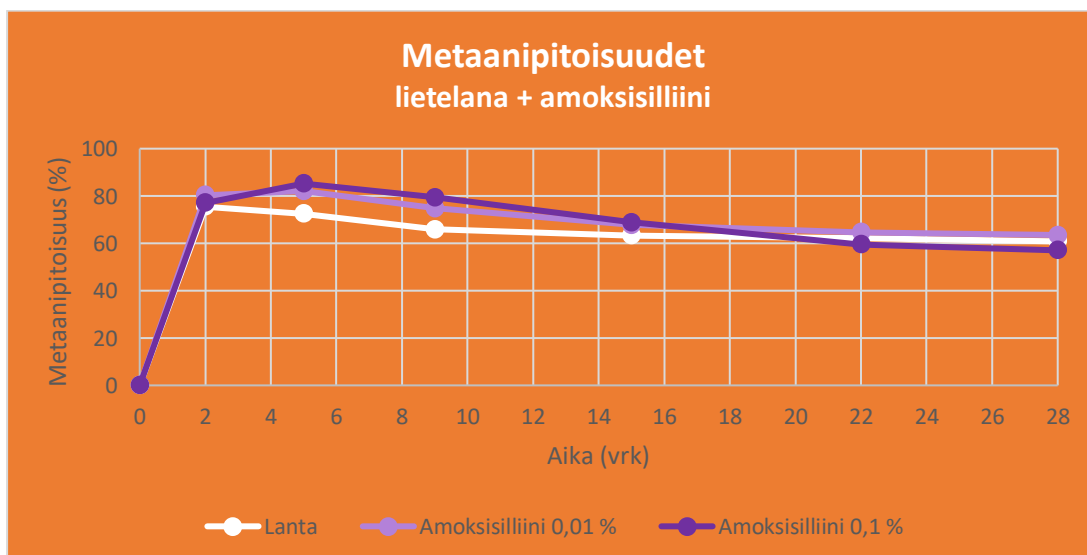
## 5.2 Amoksisilliinin vaikutus

Amoksisilliini on vaikuttanut tuotetun metaanin määrään, vaikkakin kahden eri pitoisuuden välinen ero metaanintuotossa on melko pieni (kuva 14). Amoksisilliinin pitoisuuksilla on myös kertynyt vähemmän biokaasua. Yllättävästi kuitenkin suuremmalla amoksisilliinimäärällä on saatu enemmän biokaasua kuin pienemmällä.



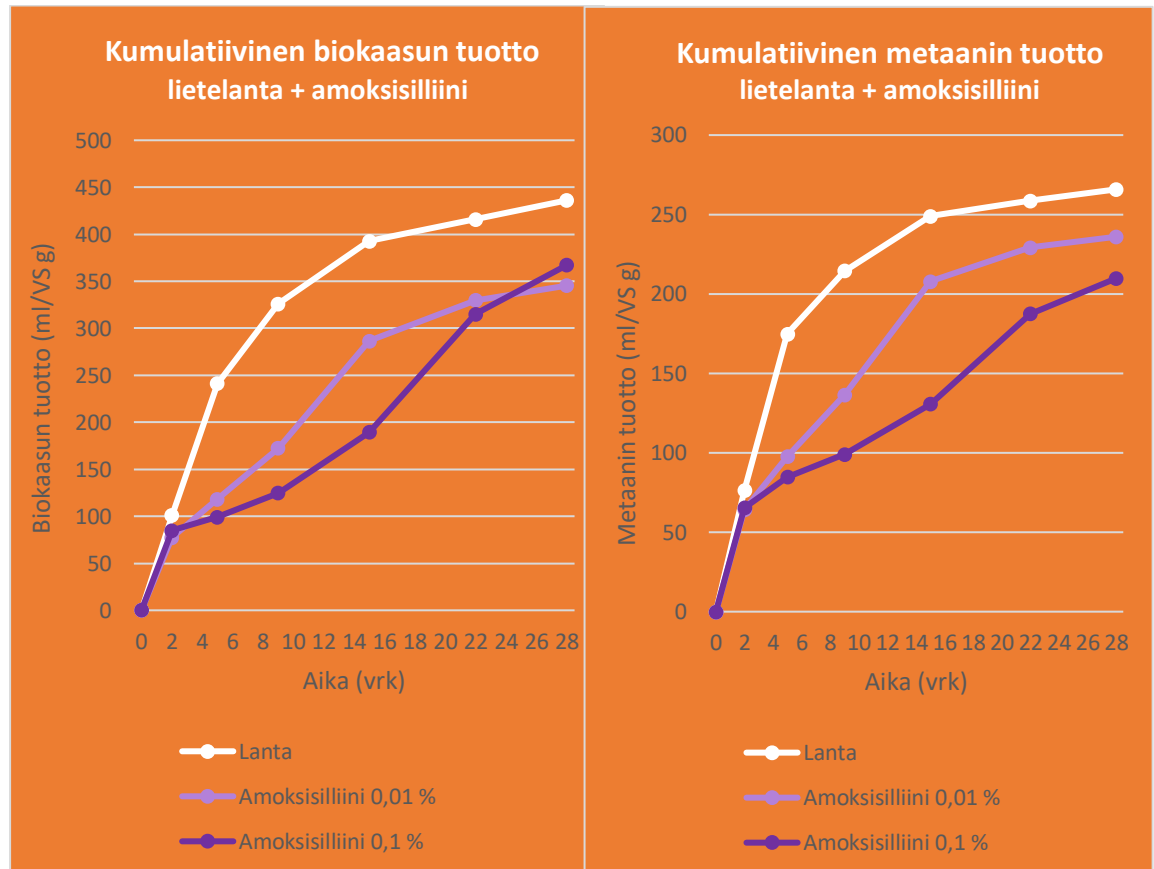
Kuva 14. Panoskokeen aikana kerääntynyt biokaasu ja metaani erilaisilla amoksisilliinin pitoisuuksilla.

Kokeen alussa tuotetun biokaasun metaanipitoisuudet ovat amoksisilliinin pitoisuuksilla korkeammat kuin puhtaalla lietelannalla (kuva 15). Metaanipitoisuudet ovat lähteneet laskuun 5. vuorokaudesta eteenpäin. Loppua kohden kaikkien syötteiden metaanipitoisuudet ovat tasoittuneet melko samalle tasolle.



Kuva 15. Amoksisilliinin vaikutus metaanipitoisuuteen

Kummallakin pitoisuudella, sekä tuotetun biokaasun että metaanin kohdalla, ero puhtaaseen lietelantaan alkaa selkeästi parin päivän päästä kokeen alusta (kuva 16). Tämä on erityisen mielenkiintoista, sillä metaanipitoisuudet (kuva 15) ovat viidenteen päivään asti korkeampia.



Kuva 16. Biokaasun ja metaanin tuoton kertyminen yhtä kuiva-ainegrammaa kohti.

Amoksisilliinin eri pitoisuuksia sisältävien syötteiden käyrien muoto on keskenään kohtalaisen samanlainen, mutta poikkeaa melko paljon pelkästä lietelannasta. Kokeen lopussa pelkän lannan sekä amoksisilliinin pienemmän pitoisuuden kohdalla biokaasun ja metaanin kertyminen on jo tasoittunut, mutta suuremman pitoisuuden kohdalla näyttäisi, että prosessi olisi vielä käynnissä.

## 6 TULOSTEN TARKASTELU

Vesivaa'alla biokaasun määriä mitattaessa tulokset arvioitiin silmämääräisesti vaakaan piirretyistä viivoista. Tämän takia yksittäisten panosten kohdalla mitaustuloksissa saattoi esiintyä pientä epätarkkuutta, joka kuitenkin jäi alle 50

ml. Kaasukromatografi toimi välillä hieman ailahtelevasti ja joissain tapauksissa jouduttiin metaanipitoisuudet määrittämään moneen kertaan yhden panoksen osalta. Näillä tekijöillä ei kuitenkaan ole merkittävää vaikutusta lopullisiin tuloksiin, sillä käytettiin kolmea rinnakkaista panospulloa: vaikka mittausvirheitä yhden pullon kohdalla olisikin käynyt, suuret poikkeamat jätettiin pois keskiarvojen laskusta. Kaikissa panospulloissa oli samaa ympäristöä ja lantaa, sekä pullojen sisältöjen VS-pitoisuudet olivat samat, joten eri panospullojen tuloksia pystyy hyvin vertaamaan keskenään.

Kuparisulfaatin pitoisuuksilla biokaasun ja metaanin tuotto on tapahtunut melko tasaisesti kertoen mahdollisesti siitä, että kuparisulfaattia ei kulu prosessin edetessä. Tätä ei kuitenkaan olla vielä muissa tutkimuksissa todettu, eikä tässä kokeessa mitattu mädätysjäätösten kuparisulfaattipitoisuuksia, joten suoraa johtopäätöksiä ei välttämättä voida tehdä. Biokaasun ja metaanin tuottojen osalta tulokset ovat melko yhteneväisiä aikaisemmissa tutkimuksissa todettujen kuparin ja sulfaatin erillisten vaikutusten kanssa.

Lin (1992; 1993) sekä Yenigün ym. (1996) tutkimuksissa kupari inhiboi hajotuksen alkuvaiheiden mikrobien toimintaa, joka tässä kokeessa saattaa näkyä suuremman pitoisuuden prosessin hitaassa käynnistymisessä. Pienemällä pitoisuudella ei vastaavaa vaikutusta ole. Tämä saattaa kertoa siitä, että kuparia on ollut sen kohdalla syötteessä sopiva määrä ja kupari on päätenyt prosessin häiritsemisen sijasta hydrolyyttien ravinnoksi. Kupari onkin tästä syystä jopa saattanut tehostaa prosessin alkuvaiheiden mikrobien toimintaa, näkyen suurena biokaasun määränä sekä korkeina metaanipitoisuuksina kokeen alkuvaiheessa.

Sulfaatti lisää sitä pelkistävien bakteerien määrää prosessissa. Kymäläisen & Pakarisen (2015, 68-71) mukaan nämä bakteerit tuottavat vedystä ja asetaa-tista metaanin sijasta rikkivetyä ja hiilidioksidia. Ne siis vaikeuttavat metanogeenien toimintaa paitsi kilpailemalla samoista lähtöaineista, mutta myös tuottamalla toksista rikkivetyä. Tämän tutkimuksen tulokset ovat tämän kanssa yhteneväisiä, ja sulfaattia pelkistävien bakteerien vaikutus näkyy luultavasti kummankin pitoisuuden kohdalla viidennestä päivästä eteenpäin laskevin metaanintuottoina.

Amoksisilliinin hajoaminen ei tapahtunut tasaisesti ja epätasaisuus voimistui pitoisuuden kasvaessa. Suuremman pitoisuuden kohdalla näyttää siltä, että biokaasun ja metaanin tuotto olisi jatkunut vielä panoskokeen 28 vuorokauden jälkeenkin. Epätasaisuus saattaa selittyä amoksisilliinin määrän vähenemisellä syötteessä, jolloin nämä tulokset käyvät yhteen Nuengjamnong ym. (2010) sekä Massé ym. (2014) tutkimusten kanssa, joissa amoksisilliinin pitoisuudet ovat pienentyneet selkeästi prosessin aikana.

Nuengjamnong ym. (2010) tutkimuksessa amoksisilliini on vaikuttanut prosessissa nimenomaan fermentoiviin mikrobeihin. Tämä saattaa näkyä tässäkin tutkimuksessa amoksisilliinin pitoisuuksilla saaduissa pienemmissä biokaasun määrissä: fermentaatiosta saadaan haihtuvien rasvahappojen lisäksi myös biokaasun toista pääainetta, hiilidioksidia. Fermentaation häiriintyminen on saattanut myös vaikuttaa amoksisilliinin alkuvaiheen erityisen korkeisiin metaanipitoisuuksiin, kun osa normaalisti prosessissa tuotetusta hiilidioksidista on mahdollisesti jäänyt syntymättä.

## **7 JOHTOPÄÄTÖKSET**

Tutkimuksessa selvitettiin, kuinka maataloudessa melko laajasti käytetyt kuparisulfaatti ja amoksisilliini vaikuttavat naudun lietelannan mädätyksestä saatavaan biokaasun määrään ja metaanipitoisuuteen. Tutkimuksen kokeessa käytetyt kemikaalien pitoisuudet ovat luultavasti maatilojen lietelannan todellisiin pitoisuuksiin verrattuna hieman suurempia, mutta ne antavat kuitenkin selkeitä viitteitä inhiboivasta vaikutuksesta – erityisesti kuparisulfaatin kohdalla.

Lietelantaa substraattina käsittelevien eläintilojen kannattaa tämän tutkimuksen perusteella harkita eläintenhoitoon käytettävien kuparisulfaattiliuosten pitoisuutta. Sorkkakylvyille on olemassa myös vaihtoehtoisia ratkaisuja, vaikkakaan niiden hoitoteho ei vielä yllä kuparisulfaattiliuoksen tasoon (Sandelin 2015). On hyvä huomioida myös se, että kuparisulfaatti ei tämän kokeen biokaasun ja metaanin tasaisen kertymisen perusteella kulu hajoamisprosessissa, vaan päättyy mädätysjäännökseen ja lannoitteena pelloille. Vaikka kupari on pieninä määrinä välttämätön hivenaine kaikille eläville organismeille, voi se liian suurina määrinä olla kasveille myrkyllistä.



Kuparisulfaatin tulokset ovat suhteellisen yhteneväisiä olemassa olevan kuparin ja sulfaatin tutkimustiedon kanssa, mutta vain yhden kokeen perusteella ei sen vaikutuksista voida välttämättä vielä tehdä täysiä johtopäätöksiä. Tulevissa vastaavissa kokeissa olisi ainakin tarpeen määrittää mädätysjäännökseen jäävä kuparisulfaatin määrä. Lietelantaa mädätetään usein yhdessä maatalon muiden sivu- ja jätevirtojen, kuten rehun tai oljen, kanssa. Tästä syystä olisi mielenkiintoista - ja varmasti maatalouden biokaasulaitoksille hyödyllistä - nähdä kuparisulfaatin vaikutusta yhteismädätyksessä, jolloin reaktorissa olisi enemmän aktiivista biomassaa, kestäen mahdollisesti paremmin inhiboivia aineita.

Amoksisilliinin pitoisuudet eivät vaikuttaneet biokaasuprosessiin aivan yhtä ilmeisesti kuin kuparisulfaatin, mutta sen vaikutus prosessin fermentaatiovaiheeseen oli tuloksista tulkittavissa. Kummallakin amoksisilliinin pitoisuudella hajoaminen tapahtui melko epätasaisesti, jonka vuoksi aineksen hajoaminen olisi saattanut vielä jatkua sarjaprosessin jälkeenkin. Tämä saattaisi käytännössä tarkoittaa pidempää viipymäaika biokaasuprosessissa.

Kuparisulfaatin tavoin, olisi varmasti tarpeellista tutkia amoksisilliinin vaikutusta lietelannan yhteismädätykseen. Mahdollisen hitaamman hajoamisen takia, seuraavan vastaavan tutkimuksen kannattaisi olla muutaman päivän pidempi, jotta voitaisiin nähdä, kuinka pitkään todellisuudessa amoksisilliinin pitoisuudella biokaasun ja metaanin tuottoa tapahtuu.

Anaerobista hajoamista on tutkittu hyvin paljon, mutta prosessissa tapahtuva, monimutkainen mikrobimaailma on yhä melko tuntematon. Tästä syystä jotkin tämänkin tutkimuksen tulokset, kuten se, että amoksisilliinin suuremmalla pitoisuudella saatiin tuotettua enemmän biokaasua kuin pienemmällä, eivät ole täysin selitettävissä olemassa olevalla tiedolla. Biokaasuprosessista tarvitaan siis edelleen lisätutkimuksia sekä parempaa ymmärrystä prosessin mikrobeista, jotta tuotanto voitaisiin optimoida mahdollisimman kannattavaksi. Tämä tutkimus kuitenkin toteutti sille asetetut tavoitteet, sillä saatiin tuotettua luotettavia ja käytäntöön sovellettavia tuloksia, joista on hyötyä maatalouden biokaasulaitosten tehokkuuden parantamisessa.

## LÄHTEET

- Biokaasun tuotanto maatilalla. 2013. Motiva Oy. PDF-dokumentti. Saatavissa: [https://www.motiva.fi/files/6958/Biokaasun\\_tuotanto\\_maatilalla.pdf](https://www.motiva.fi/files/6958/Biokaasun_tuotanto_maatilalla.pdf) [viitattu 15.2.2019]
- Copper Development Association. 2018. Uses of Copper Sulphate. WWW-dokumentti. Saatavissa: <https://copperalliance.org.uk/about-copper/copper-compounds/uses-copper-sulphate/> [viitattu 5.4.2018]
- Eduskunta. 2017. Biokaasu Suomessa – nyt ja 2030. PowerPoint -esitys. Saatavissa: <https://www.eduskunta.fi/FI/vaski/JulkaisuMetatieto/Documents/EDK-2017-AK-150421.pdf> [viitattu: 14.5.2019]
- Evira. 2009. Mikrobilääkkeiden käyttösuositukset eläinten yleisimpiin tulehdus- ja tartuntatauteihin. *Eviran julkaisu* 3/2009.
- Helsingin Yliopisto, Kliinisen Tuotantoeläinlääketieteen Osasto. 2015. Ohjeita eläinlääkärille sorkkavälin ajotulehdusepidemioissa. PDF-dokumentti. Saatavissa: [https://www.ett.fi/sites/default/files/user\\_files/terveydenhuolto/Nautath/EI%C3%A4in%C3%A4%C3%A4k%C3%A4riohje%20sorkkav%C3%A4lin%20ajotulehdusepidiaan.pdf](https://www.ett.fi/sites/default/files/user_files/terveydenhuolto/Nautath/EI%C3%A4in%C3%A4%C3%A4k%C3%A4riohje%20sorkkav%C3%A4lin%20ajotulehdusepidiaan.pdf) [viitattu 4.3.2019]
- Karhinen, T. 2017. Lääke- ja haitta-aineiden vaikutuksia MBR-lietteen metaanintuotantopotentiaaliin. Opinnäytetyö. Kaakkois-Suomen ammattikorkeakoulu. PDF-dokumentti. Saatavissa: [file:///C:/Users/elisa/AppData/Local/Packages/microsoft.windowscommunicationsapps\\_8wekyb3d8bbwe/LocalState/Files/S0/191/Attachments/](file:///C:/Users/elisa/AppData/Local/Packages/microsoft.windowscommunicationsapps_8wekyb3d8bbwe/LocalState/Files/S0/191/Attachments/)
- KeraSil Oy. 2018. Kuparisulfaatti. WWW-dokumentti. Saatavissa: <https://www.kerasil.fi/Kuparisulfaatti> [viitattu 30.3.2018]
- Kuparisulfaatti, FEED. 2014. Käyttöturvallisuustiedote kuparisulfaatti, FEED. PDF-dokumentti. Saatavissa: [https://teollisuushankinta.fi/useruploads/files/kuparisulfaatti\\_feed.pdf](https://teollisuushankinta.fi/useruploads/files/kuparisulfaatti_feed.pdf) [viitattu 5.4.2019]
- Kymäläinen, M., Pakarinen, O. (toim.) 2015. Biokaasuteknologia – Raaka-aineet, prosessointi ja lopputuotteiden hyödyntäminen. Hämeenlinna: Hämeen ammattikorkeakoulu (HAMK). PDF-dokumentti. Saatavissa: [https://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/104180/HAMK\\_Biokaasun\\_tuotanto\\_2015\\_ekirja.pdf](https://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/104180/HAMK_Biokaasun_tuotanto_2015_ekirja.pdf) [viitattu 15.2.2019]
- Lallai, A., Mura, G., Onnis, N. 2002. The effects of certain antibiotics on biogas production in the anaerobic digestion of pig waste slurry. *Bioresource Technology*. Volume 82(2), 205-208.
- Lin, C-Y. 1992. Effect of heavy metals on volatile fatty acid degradation in anaerobic digestion. *Water Research* 26(2), 177-183
- Lin, C-Y. 1993. Effect of heavy metals on acidogenesis in anaerobic digestion. *Water Research* 27(1), 147-152

Maa- ja metsätalousministeriö. 2019. Maatalous uusiutuvan energian tuottajana ja käyttäjänä. WWW-dokumentti. Saatavissa: <https://mmm.fi/ruoka-ja-maatalous/biokaasu> [viitattu 24.4.2019]

Massé, D. I., Saady, N. M. C., Gilbert, Y. 2014. Potential of Biological Processes to Eliminate Antibiotics in Livestock Manure: An Overview. *Animals (Basel)* 4(2), 146-163

Moset, V., Poulsen, M., Wahid, R., Hojberg, O., Moller, H. B. 2015. Mesophilic versus thermophilic anaerobic digestion of cattle manure: methane productivity and microbial ecology. *Microb Biotechnol.* 8(5), 787-800.

Nuengjamnong, C., Rachdawong, P., Chalermchaikit, T. 2010. Effect of Amoxicillin on biogas Production and the *Eschericia coli* Population in Biogas Systems Treating Swine Wastewater. *Thai J. Vet. Med.* 40(1), 57-62.

Properties of Manure. 2015. Manitoba Agriculture, Food and Rural Development. PFD-dokumentti. Saatavissa: <https://www.gov.mb.ca/agriculture/environment/nutrient-management/pubs/properties-of-manure.pdf> [viitattu 20.2.2019]

Ramos, F., Boison, J., Friedlander, L. G. 2012. Amoxicillin. PDF-dokumentti. Saatavissa: [http://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/vetdrug/docs/12-2012-amoxicillin.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/vetdrug/docs/12-2012-amoxicillin.pdf) [viitattu 25.4.2019]

Royal Society of Chemistry. 2019. How will we save our endangered elements? WWW-dokumentti. Saatavissa: <https://eic.rsc.org/feature/how-will-we-save-our-endangered-elements/3010098.article> [viitattu 22.4.2019]

Sandelin, A. 2015. Lypsykarjatiloilta käytettävät sorkkakälypyaineet. PDF-dokumentti. Saatavissa: [https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/155363/lisensiaatin\\_tutkielma\\_Sandelin\\_Atte\\_2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/155363/lisensiaatin_tutkielma_Sandelin_Atte_2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y) [viitattu 5.4.2018].

Wellinger, A., Murphy, J., Baxter, D. (toim.) 2013. The biogas handbook – Science, production and applications. Cambridge, UK: Woodhead Publishing Limited.

Yenigün, O., Kizilgün, F., Yilmazer, G. 1996. Inhibition Effects of Zinc and Copper on Volatile Fatty Acid Production During Anaerobic Digestion. *Environmental Technology* 17(11), 1269-1274

Yzodinma, E. O. U., Ofoefule, A. U., Eze, J. I., Onwuka, N. D. 2007. Optimum mesophilic temperatures of biogas production from blends of agro-based wastes. *Trends in Applied Sciences Research.* 2(1), 39-44.

Liite 1  
Esimerkki biokaasun mittaustuloksista

11. Joulku

**Biokaasureaktorimittaukset**

pvm 

24.5.2018
-----------

Lämpötila: 

42
----

Mittauksen aloitusaika: 

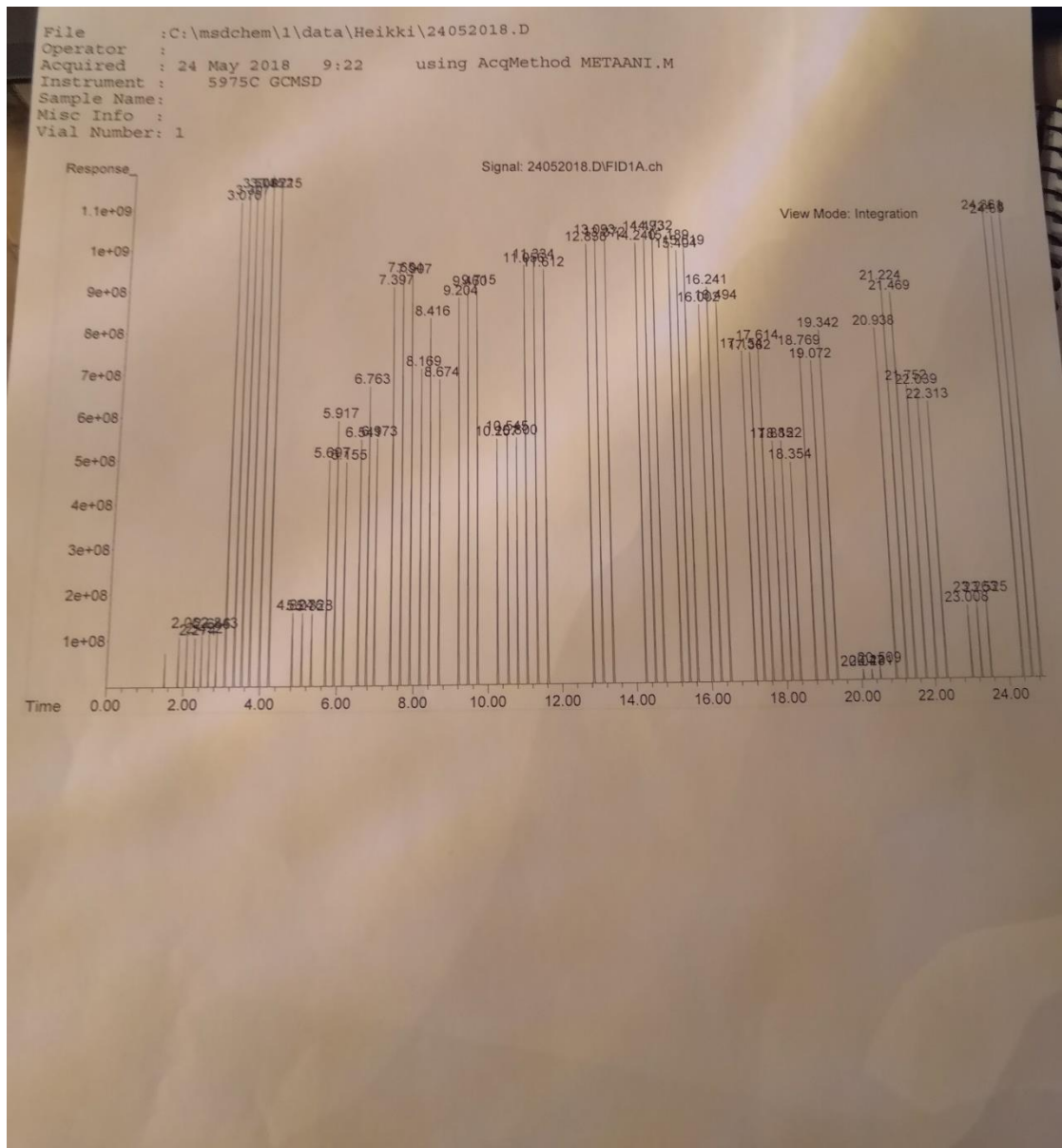
9:15
------

Mittauksen lopetusaika 

--

Reaktori	Kaasu lähtö (L)	Kaasu loppu (L)	Huom!
1	2.3	2.3	
2	2.25	1.65	
3	2.3	2.25	
4	8.15	5.45	
5	7.9   5.05	6.25   4.1	Letku irtoa mittauksessa
6	5.55	3.6	
7	4.1	1.2	
8	3.6	1.6	
9	2.3   2.35	0.45   1.6	
10	8.3	4.05	
11	7.65	3.65	
12	8.25	4.7	
13	4.05	2.75	
14	4.7	2.0	
15	3.65	1.8	
16	8.05	4.05	
17	4.05	2.3	
18	2.75	2.65	

## Esimerkki kaasukromatografian piirtämistä piikeistä



## Esimerkki piikkien integroiduista pinta-aloista

Signal: 24052018.D\FID1A.ch

Peak #	Ret Time	Type	Width	Area	Start Time	End Time
1	2.062	BB	0.007	531401628	2.037	2.087
2	2.274	BB	0.007	481733959	2.258	2.299
3	2.452	BB	0.007	444882785	2.424	2.477
4	2.646	BB	0.007	481928446	2.626	2.671
5	2.843	BB	0.007	481165906	2.819	2.868
6	3.070	BB	0.014	10128568896	3.051	3.146
7	3.307	BB	0.014	10388274816	3.288	3.383
8	3.508	BV	0.014	10975599319	3.489	3.584
9	3.715	BV	0.014	10842060346	3.698	3.792
10	3.972	BV	0.014	11009674161	3.953	4.048
11	4.215	BB	0.014	10823744199	4.196	4.292
12	4.824	BB	0.016	1638863036	4.802	4.889
13	5.076	BB	0.016	1629106982	5.053	5.142
14	5.328	BB	0.016	1596973328	5.305	5.393
15	5.697	BB	0.015	4872183866	5.677	5.770
16	5.917	BB	0.016	5975867909	5.897	5.993
17	6.155	BB	0.015	4925989512	6.133	6.228
18	6.541	BB	0.015	5484035453	6.520	6.614
19	6.763	BB	0.016	6897619610	6.743	6.839
20	6.973	BB	0.016	5599743661	6.952	7.048
21	7.397	BB	0.014	8656194020	7.377	7.476
22	7.654	BB	0.015	9076660216	7.634	7.732
23	7.907	BB	0.014	8838216117	7.888	7.986
24	8.169	BB	0.015	6799896868	8.148	8.244
25	8.416	BB	0.015	8032384056	8.397	8.495
26	8.674	BB	0.015	6720215173	8.654	8.752
27	9.204	BB	0.015	8681117248	9.183	9.280
28	9.460	BB	0.015	8816639090	9.440	9.537
29	9.715	BB	0.015	8945601933	9.696	9.793
30	10.257	BB	0.015	5411695292	10.236	10.330
31	10.545	BB	0.015	5474786894	10.523	10.618
32	10.800	BB	0.015	5444914480	10.779	10.873
33	11.056	BB	0.014	8966592454	11.036	11.135
34	11.334	BB	0.014	9035027195	11.314	11.411
35	11.612	BB	0.015	9173070504	11.591	11.691
36	12.838	BB	0.014	9531042481	12.815	12.918
37	13.093	BB	0.014	9686162497	13.073	13.174
38	13.372	BB	0.014	9680887543	13.353	13.452
39	14.240	BB	0.014	9663717933	14.220	14.321
40	14.493	BB	0.014	9866236866	14.473	14.573
41	14.732	BB	0.015	9985630101	14.712	14.811
42	15.189	BB	0.014	9652748703	15.169	15.269
43	15.404	BB	0.014	9440253728	15.385	15.484
44	15.619	BB	0.015	9726073704	15.599	15.698
45	16.002	BB	0.015	8494068253	15.982	16.080
46	16.241	BB	0.015	8860485439	16.222	16.320
47	16.494	BB	0.015	8489106603	16.474	16.573
48	17.154	BB	0.015	7412665565	17.134	17.231
49	17.382	BB	0.016	7517385334	17.362	17.458
50	17.614	BB	0.016	7859751733	17.593	17.691
51	17.885	BB	0.015	5180300516	17.864	17.959
52	18.122	BB	0.015	5144336283	18.102	18.195
53	18.354	BB	0.015	4757615973	18.333	18.427
54	18.769	BB	0.015	7436562062	18.748	18.846
55	19.072	BB	0.015	6981317981	19.051	19.150
56	19.342	BB	0.014	7473669200	19.321	19.418
57	20.047	BB	0.016	228073623	20.025	20.101
58	20.281	BB	0.016	238896849	20.259	20.337
59	20.509	BB	0.017	313018909	20.488	20.566
60	20.938	BB	0.015	7759247894	20.918	21.017
61	21.224	BB	0.015	8873985101	21.204	21.300
62	21.469	BB	0.015	8640055198	21.449	21.546
63	21.752	BB	0.015	6677575993	21.732	21.826
64	22.039	BB	0.015	6359363133	22.019	22.114
65	22.313	BB	0.015	6253862331	22.293	22.388
66	23.008	BB	0.016	1613740112	22.987	23.073
67	23.263	BB	0.016	1825446216	23.242	23.328
68	23.525	BB	0.016	1854032859	23.503	23.590
69	24.361	BB	0.014	9801887244	24.342	24.438
70	24.595	BB	0.013	9483207269	24.576	24.670
71	24.831	BB	0.013	9584637959	24.812	24.908